

## НАСТАВНО-НАУЧНОМ ВЕЋУ БИОЛОШКОГ ФАКУЛТЕТА УНИВЕРЗИТЕТА У БЕОГРАДУ

На Х редовној седници Наставно-научног већа Биолошког факултета Универзитета у Београду, одржаној 05. 09. 2016. године прихваћен је извештај ментора Иване Стојановић о урађеној докторској дисертацији Милице Вујичић, истраживача сарадника у Институту за биолошка истраживања „Синиша Станковић” под насловом „**Утицај воденог, метанолног и етил-ацетатног екстракта грчког оригана *Origanum vulgare ssp. hirtum* на дијабетес тип 1 индукован вишеструким малим дозама стрептозотоцина код C57BL/6 мишева**” и одређена је Комисија за преглед и оцену докторске дисертације у саставу:

1. Др Ивана Стојановић, научни саветник, Институт за биолошка истраживања „Синиша Станковић“, Универзитет у Београду, ментор
2. Др Милена Катрановски, редовни професор, Биолошки факултет, Универзитет у Београду
3. Др Драгана Декански, виши научни сарадник, „Галеника а.д.“, Београд

Комисија је прегледала урађену докторску дисертацију кандидаткиње и Већу подноси следећи

### ИЗВЕШТАЈ

#### ОПШТИ ПОДАЦИ О ДОКТОРСКОЈ ДИСЕРТАЦИЈИ

Докторска дисертација Милице Вујичић под насловом „**Утицај воденог, метанолног и етил-ацетатног екстракта грчког оригана *Origanum vulgare ssp. hirtum* на дијабетес тип 1 индукован вишеструким малим дозама стрептозотоцина код C57BL/6 мишева**” обухвата 120 страница текста, 29 слика и 4 табеле. Текст се састоји од 7 поглавља и то: Увод (17 страна), Циљеви рада (2 стране), Материјали и методе (24 стране), Резултати (45 страна), Дискусија (12 страна), Закључци (2 стране) и Литература (17 страна).

Предмет докторске дисертације је испитивање ефекта екстраката грчког оригана на ћелије имунског система и развој дијабетеса тип 1 код експерименталних мишева C57BL/6 соја, утврђивање механизма деловања екстраката, као и покушај одређивања активних супстанци ових екстраката.

Експериментални део рада у оквиру докторске дисертације урађен је у Одељењу за имунологију Института за биолошка истраживања „Синиша Станковић” Универзитета у Београду, а процедуре које су укључивале рад са животињама су одобрене од стране Етичког комитета истог института (решење бр. 2-27/10-01-189).

Резултати истраживања које је кандидаткиња Милица Вујичић приказала у овој дисертацији пружају нова сазнања о потенцијалима екстраката грчког оригана у превенцији аутоимунског дијабетеса. С обзиром на то да је дијабетес тип 1 хронична болест која се најчешће јавља код деце и за коју за сада не постоји одговарајући лек, научно и социолошки је оправдана потрага за новим терапијским модалитетима. Такође,

превентивна терапија дијабетеса тип 1 је потпуно оправдана јер је дијабетес и генетски условљена болест, те превентивну терапију могу примати најближи рођаци оболеле особе чији је ризик за оболевање велики. Резултати ове тезе указали су да је битан начин справљања екстраката (што као последицу има и различит састав екстракта) и да метанолни и етил-ацетатни екстракт грчког оригана имају снажнији ефекат у превенцији дијабетеса тип 1 у односу водени екстракт као и на појединачне супстанце које чине ове екстракте. Такође, истражен је и механизам деловања поменутих екстраката и утврђено да екстракти заправо делују на различите популације имунских ћелија, стимулишући превасходно анти-инфламацијске ћелије (Th2 лимфоците и Т регулаторне лимфоците, M2 макрофаге), а инхибирајући про-инфламацијске Th1 и Th17 које су главни актери деструкције бета ћелија панкреаса.

## АНАЛИЗА ДОКТОРСKE ДИСЕРТАЦИЈЕ

**Увод** докторске дисертације има три дела у којима је дат приказ савремених знања о патогенези дијабетеса тип 1 и супстанцама пореклом из биљака које модулишу инфламацију. У првом делу истакнута је озбиљност и хроничитет дијабетеса тип 1 са подацима о инциденци ове болести преузете од Интернационалне Федерације за Дијабетес. Такође је детаљно описана етиологија и патогенеза дијабетеса тип 1. Посебно су истакнути сви чиниоци који доприносе развоју ове болести (како генетски тако и средински). Такође, детаљније су описане и ћелије урођене и стечене имуности које учествују у индукцији апоптозе бета ћелија панкреаса и њихови медијатори као што су цитокини IFN- $\gamma$ , IL-17, TNF, IL-1 $\beta$ . Даље, наведени су сви животињски модели ове болести са њиховим предностима и манама, и детаљно је описан модел дијабетеса тип 1 где се болест индукује хемијским путем (вишеструким малим дозама стрептозотоцина), а који је коришћен у овој докторској дисертацији. У другом делу приказани су потенцијални терапијски приступи за лечење дијабетеса тип 1. С обзиром на то да регистрован лек за дијабетес тип 1 не постоји, а биљке су богате појединим супстанцама са анти-инфламацијским деловањем, у уводу се даље прешло на трећи део који је објаснио лековита својства биљака, њихових екстраката и есенцијалних уља. Такође су окарактерисане групе једињења која чине екстракте и њихова потенцијална анти-инфламацијска дејства. С обзиром на то да је предмет ове докторске дисертације испитивање различитих екстраката грчког оригана на развој дијабетеса тип 1, један одељак је посвећен овој биљци и истраживањима о њеним лековитим дејствима који укључују анти-бактеријско, анти-оксидативно, и анти-коагулацијско. Такође је поменуто анти-хипергликемијско дејство воденог екстракта оригана у токсичном моделу дијабетеса, резултат једине до сада објављене студије која је испитивала дејство оригана у моделу дијабетеса.

У оквиру поглавља **Циљеви истраживања** кандидаткиња полази од тога да је: (а) дијабетес тип 1 хронична инфламацијска болест и (б) да су различити екстракти грчког оригана богати анти-инфламацијским супстанцама. У складу са овим разматрањима, кандидаткиња јасно износи да је основни циљ истраживања: испитивање улоге метанолног, воденог и етил-ацетатног екстракта оригана у регулацији аутоимуности усмерене на бета ћелије панкреаса, дефинисање њихових ћелијских и молекулских мета, одређивање механизма њиховог дејства и изоловање активних принципа наведених екстраката.

С обзиром на то да је основни циљ веома сложен, истраживања су подељена на пет специфичних циљева. Реализација првог специфичног циља подразумева *in vitro* испитивање дејства метанолног, воденог и етил-ацетатног екстракта оригана на

преживљавање и ефекторску функцију макрофага из перитонеалне течности и лимфоцита из цервикалних лимфних чворова изолованих из мишева високосродног соја C57BL/6 Други специфични циљ подразумева испитивање дејства екстраката на преживљавање бета ћелија панкреаса. Као трећи специфични циљ постављено је испитивање дејства екстраката оригана на развој дијабетеса тип 1 изазваног давањем вишеструких малих доза стрептозотоцина мишевима високосродног соја C57BL/6. Реализација четвртог специфичног циља подразумева *ex vivo* одређивање ћелијских и молекулских механизма фармаколошке модулације дијабетеса тип 1 применом екстраката оригана. Остваривање петог специфичног циља овог истраживања подразумева одређивање једног или више активних принципа екстраката оригана који су у претходном испитивању показали повољно дејство на развој дијабетеса тип 1 изазваног вишеструким малим дозама стрептозотоцина на мишевима соја C57BL/6.

У оквиру поглавља **Материјал и методе** описане су методе имунологије, ендокринологије и молекуларне биологије које су коришћене у реализацији постављених циљева. Најпре су наведени реагенси, раствори и медијуми коришћени током израде експеримената, а онда је описан начин изазивања дијабетеса тип 1 вишеструким малим дозама стрептозотоцина које покрећу аутоимунски одговор на антигене бета ћелија панкреаса, начин деструкције бета ћелија који доводи до хроничног недостатка инсулина који води хипергликемији. Мишеви соја C57BL/6 подељени су у групе (од 7-10 мишева по групи) које су третиране метанолним, етил-ацетатним, воденим екстрактом грчког оригана, као и групе које су третиране појединачним састојцима ефективних екстраката (салвијаноличном киселином, рузмаринском киселином и карвакролом). Контролне групе су уместо наведених екстраката оригана или појединачних супстанци третиране вишеструким малим дозама стрептозотоцина и растварачем у којој су растворени екстракти оригана или појединачне супстанце- третман натријум фосфатним пуфером и диметил сулфоксидом представља контролу за животиње третиране метанолним и етил-ацетатним екстрактом оригана, натријум фосфатни пуфер као контролна група за животиње третиране воденим екстрактом оригана, рузмаринском и салвијаноличном киселином и маслиново уље као контролна група за животиње третиране карвакролом.

Даље је описан начин изоловања ћелија перитонеалног испирка, слезине, цервикалних и панкреасних лимфних чворова, моноклеарних панкреасних инфилтрата, као и панкреасних острваца и њихова култивација *in vitro*. Такође, описана је култивација ћелија линије пацовског инсулинома које су коришћене као пандан бета ћелијама панкреаса. У оквиру техника детаљно су описане технике пасажирања и бројања ћелија. У циљу одређивања вијабилитета ћелија описан и коришћен је МТТ тест, а за утврђивање апоптозе есеј за детекцију комплекса хистона и ДНК.

Сигнални путеви укључени у апоптозу бета ћелија одређивани су на нивоу детекције активности каспазе-3 флуориметријским тестом.

Функција ћелија имунског система одређивана је мерењем секреције цитокина ЕЛИСА методом и мерењем продукције нитрита Грис методом.

Број, тип и функционално стање ћелија имунског система мерено је методом проточне цитофлуориметрије. Овом методом мерена је и присутност транскрипционих фактора неопходних за диференцијацију одређених популација Т лимфоцита.

Описана је и метода за одређивање количине протеина, имуноблот, којом је измерена количина протеина укључених у сигналне путеве диференцијације Т лимфоцита. У циљу одређивања експресије различитих гена детаљно је описана метода реакције ланчаног умножавања у реалном времену (енгл. Real-time PCR).

У циљу утврђивања присуства инсулина и нитротирозина у панкреасним острвцима

коришћена је техника калуђења ткива у парафину и детекција ових молекула имунохистохемијском методом на парафинским пресецима панкреаса. Бојењем парафинских пресека хематоксилином и еозином испитиван је степен инфламације панкреасних острваца на хистолошким пресецима панкреаса.

У поглављу **Резултати**, кандидаткиња је јасно и прегледно приказала резултате спроведених истраживања. Руководећи се постављеним циљевима резултати су подељени у четири целине, у којима су на прегледан начин и графички документовано изнети добијени експериментални подаци. У првом делу приказана су имуномодулаторна дејства екстракта оригана на макрофаге и лимфоците, као и цитопротективно дејство метанолног и етил-ацетатног екстракта оригана на бета ћелије панкреаса *in vitro*. Екстракти су утицали на смањење секреције инфламацијских фактора попут цитокина IL-1 $\beta$  (водени и етил-ацетатни екстракт оригана) и азот монооксида (метанолни и водени екстракт оригана). Бета ћелије панкреаса су циљне ћелије у патогенези дијабетеса тип 1, па је овај резултат значајан јер показује директно дејство метанолног и етил-ацетатног екстракта оригана на спречавање апоптозе бета ћелија панкреаса, и то, у случају метанолног екстракта оригана, директном блокадом активности каспазе-3 која је укључена у сигналну каскаду митохондријског пута апоптозе. У овој целини приказан је и важан податак да примењене концентрације екстракта нису деловале цитотоксично на ћелије.

У другом делу који се односи на испитивање улоге екстракта оригана на развој дијабетеса тип 1 индукованог вишеструким малим дозама стрептозотоцина код мишева соја C57BL/6 показано је да примена метанолног и етил-ацетатног, али не и воденог екстракта оригана, спречава настанак дијабетеса тип 1. Овај резултат подржан је, поред физиолошког нивоа шећера у крви, и значајно мањим бројем острваца која су била инфилтрирана ћелијама имунског система (инсулитис) код мишева третираних метанолним и етил-ацетатним екстрактом оригана у односу на контролу. Такође је показан и смањен број нитрозилованих острваца код мишева третираних метанолним екстрактом оригана. Нитрозилација протеина је последица дејства реактивних кисеоничних и азотних врста које доприносе смрти бета ћелија панкреаса у аутоимунском процесу. Ови резултати су значајни јер показују да су метанолни и етил-ацетатни екстракт оригана успели да одрже бројност и функцију панкреасних острваца на физиолошком нивоу спречавањем инфилтрације ћелија имунског система и инхибицијом продукције про-оксидативних медијатора. Даље је испитано дејство метанолног екстракта оригана на функцију панкреасних острваца и показано је да су острваца животиња третираних метанолним екстрактом оригана произвођила значајно више инсулина, што указује на очуваност панкреасних острваца. Овај резултат је важан зато што се панкреасна острваца циљано уништавају аутоимунским процесом у дијабетесу тип 1 и сама клиничка слика болести настаје када преостале бета ћелије панкреаса не могу да синтетишу довољно инсулина како би се одржала хомеостаза глукозе у организму. У овом делу истраживања испитано је и дејство екстракта на здраве животиње одређивањем метаболичких параметара који су показали да екстракти нису деловали токсично на мишеве у примењеним дозама.

У трећој целини резултата испитани су ћелијски и молекулски механизми метанолног и етил-ацетатног екстракта оригана на развој дијабетеса тип 1. Показано је да метанолни екстракт оригана није деловао на бројност и функцију ћелија урођене имуности, макрофага, у перитонеуму, слезини и моноклеарним инфилтратима панкреаса. Са друге стране, кандидаткиња показује да је метанолни екстракт оригана променио имунски одговор посредован ћелијама адаптивне имуности, помоћничким Т лимфоцитима, и то смањењем броја укупних и активираних CD4<sup>+</sup> Т лимфоцита у слезини, панкреасним лимфним чворовима и моноклеарним инфилтратима панкреаса, као и повећањем броја регулаторних Т лимфоцита у слезини и моноклеарним инфилтратима панкреаса. Даље

је испитиван однос и бројност специфичних популација помоћничких Т лимфоцита мерењем продукције и секреције цитокина типичних за специфичне популације лимфоцита. Значај ових података лежи у чињеници да имунски одговор зависи од присуства различитих популација Т лимфоцита. Зна се да у патогенези дијабетеса тип 1 доминирају инфламацијски Th1 и Th17 имунски одговори, док анти-инфламацијске Th2 и Т регулаторне ћелије имају протективну улогу. ЕЛИСА тестом и проточном цитофлуориметријом је показано да је метанолни екстракт оригана смањило инфламацијски одговор посредован Th17 лимфоцитима у слезини и панкреасним лимфним чворовима, а повећао анти-инфламацијски Th2 имунски одговор. Са друге стране, у овој студији је приказано да је етил-ацетатни екстракт оригана спречио развој дијабетеса тип 1 усмеравањем макрофага од инфламацијског, М1 фенотипа ка анти-инфламацијском, М2 фенотипу, као и смањењем броја укупних и активисаних CD4<sup>+</sup> Т лимфоцита у слезини. Етил-ацетатни екстракт оригана такође је изменио и профил Th ћелија, и то тако што је смањило број инфламацијских Th1 и Th17 лимфоцита у слезини. У овој целини су даље испитани молекулски механизми дејства екстракта оригана на дијабетес тип 1 утврђивањем експресије транскрипционих фактора неопходних за диференцијацију Th ћелија (Tbet- Th1, ROR $\gamma$ T- Th17, GATA-3- Th2 и FoxP3- регулаторни Т лимфоцити) као и експресија иРНК за цитокине представнике Th популација у ћелијама изолованим из слезина C57BL/6 мишева. Показано је да је метанолни екстракт оригана директно утицао на смањење (Th17) и повећање (Th2 и Treg) експресије транскрипционих фактора, што је довело до последичног смањења (*IL-17*) и повећања (*IL-2*) експресије гена, а самим тим и секреције цитокина типичних за ове ћелијске популације. Етил-ацетатни екстракт је директно утицао на смањење Tbet и ROR $\gamma$ T што је довело до смањене секреције IFN- $\gamma$  и *IL-17*. У наставку ове целине резултата приказано је да је механизам дејства метанолног екстракта оригана на супресију транскрипционог фактора ROR $\gamma$ T заправо директно смањење количине протеина p38 и фосфорилисане форме STAT-3 протеина који имају улогу у експресији ROR $\gamma$ T. У четвртој целини резултата кандидаткиња је приказала резултате испитивања утицаја појединачних супстанци у саставу екстракта на дијабетес тип 1 *in vitro* и *in vivo*, конкретно: рузмаринске киселине, салвијаноличне киселине и карвакрола. У овој целини је описано да, иако су све три појединачне супстанце показале одређено имуномодулаторно дејство на макрофагима перитонеалне течности и лимфоцитима из цервикалног лимфног чвора *in vitro*, ни једна од ове три супстанце није успела да супримира развој дијабетеса тип 1 изазваног вишеструким малим дозама стрептозотоцина код мишева соја C57BL/6.

У поглављу **Дискусија** кандидаткиња објашњава значај добијених резултата о ефектима различитих екстракта грчког оригана на развој дијабетеса тип 1 и у складу са већ објављеном литературом дискутује о потенцијалу коришћена ефикасних екстракта у терапији дијабетеса код људи. У почетном делу дискусије кандидаткиња објашњава разлог одабира модела дијабетеса који је коришћен у овој докторској дисертацији, као и његове предности и мане и сличности са хуманом болешћу. Након тога дискутује о начину примене одабраних екстракта грчког оригана и упоређује ефикасност сваког од њих у профилактичком режиму апликације. Такође, пореди и терапијски третман метанолног екстракта оригана (који се показао само краткотрајно ефикасним) са профилактичким третманом.

У даљој дискусији, кандидаткиња се осврће на механизам дејства метанолног и етил-ацетатног екстракта који су блокирали развој дијабетеса тип 1 *in vivo*. Сматра да екстракти имају двојачко дејство: анти-инфламацијско и цитопротективно (у односу на бета ћелије панкреаса). Кандидаткиња пореди ефекат ових екстракта на макрофаге и Т

лимфоците *in vitro* и *in vivo* и дискутује о сличностима и разликама у њиховом дејству. Најважнији део дискусије посвећен је разматрању дејства метанолног и етил-ацетатног екстракта на ћелије урођене и стечене имуности и њихове медијаторе како на периферији имунског система (у слезини), тако и на месту одигравања патолошког процеса (у панкреасним лимфним чворовима и инфилтратима панкреасних острваца). Дискутована је разлика у механизму деловања ова два екстракта. С обзиром на то да метанолни екстракт делује искључиво на Т лимфоците, а етил-ацетатни остварује своје дејство и на макрофаге и на Т лимфоците, образложен је потенцијал ових екстраката у терапији дијабетеса тип 1. У складу са литературним подацима кандидаткиња је дискутовала значај инхибиције специфичних Th17 и Th1 ћелија од стране метанолног екстракта, као и значај инхибиције M1 макрофага и њихових цитокина од стране етил-ацетатног екстракта. У овом делу објашњен је и парадоксални резултат стимулације производње TNF од стране макрофага у присуству етил-ацетатног екстракта на основу доступне литературе о различитим функцијама различитих рецептора за TNF.

У даљој дискусији образлаже се цитопротективно дејство метанолног екстракта и пореди се са одсуством истог у примени етил-ацетатног екстракта органа.

У делу дискусије о ефектима појединачних супстанци које доминирају у метанолном и етил-ацетатном екстракту, њихови ефекти *in vitro* и *in vivo* поређени су са литературним подацима који се тичу утицаја ружмаринске киселине, салвијаноличне киселине и карвакрола у другим системима и болестима. Такође кандидаткиња дискутује о разлогу изостанка протективног ефекта појединачних активних супстанци у поређењу са читавим екстрактом.

У поглављу **Литература** са 177 библиографских јединица релевантним по избору и броју, уз навођење најскоријих литературних података, види се озбиљан и студиозан приступ проблематици од стране кандидаткиње.

## БИБЛИОГРАФИЈА

### Радови и конгресна саопштења из докторске дисертације:

Б1. Радови у часописима међународног значаја

#### М-21

1. **Vujicic M.**, Nikolic I., Kontogianni V.G., Saksida T., Charisiadis P., Orescanin-Dusic Z., Blagojevic D., Stosic-Grujicic S., Tzakos A.G., Stojanovic I. Methanolic extract of *Origanum vulgare* ameliorates type 1 diabetes through antioxidant, anti-inflammatory and anti-apoptotic activity. *British Journal of Nutrition*, 2015, 113 (5): 770-782.
2. **Vujicic, M.**, Nikolic, I., Kontogianni, V. G., Saksida, T., Charisiadis, P., Vasic, B., Stosic-Grujicic, S., Gerothanassis, I. P., Tzakos, A. G. and Stojanovic, I. (2016), Ethyl Acetate Extract of *Origanum vulgare* L. ssp. *hirtum* Prevents Streptozotocin-Induced Diabetes in C57BL/6 Mice. *Journal of Food Science*, 81: H1846–H1853. doi:10.1111/1750-3841.13333.

Б2. Конгресна саопштења на скуповима међународног значаја

#### M-34

1. **Milica Vujić**, Ivana Stojanovic, Ivana Nikolic, Vassiliki Kontogianni, Pantelis Charisiadis, Andreas G. Tzakos, Stanislava Stosic-Grujicic. In vitro immunomodulatory and cytoprotective effects of *Origanum vulgare* methanol extract. 15th International Congress of Immunology, 22-27 August, 2013, Milan, Italy, p883-884.

Б3. Конгресна саопштења на скуповима домаћег значаја

#### M-64

1. **Milica Vujić**, Ivana Nikolić, Ankica Jelenković, Stanislava Stošić-Grujičić i Ivana Stojanović. Antidiјabetogeno dejstvo metanoloskog ekstrakta *Origanum vulgare*. Drugi kongres *Život sa slobodnim radikalima*, 28. Septembar, 2013, Niš, Srbija, knjiga sažetaka, str.75.

#### Радови и конгресна саопштења из уже научне области:

Б1. Радови у часописима међународног значаја

#### M-21

1. Saksida T., Nikolic I., **Vujić M.**, Nilsson U.J., Leffler H., Lukic M.L., Stojanovic I., Stosic-Grujicic S. Galectin-3 deficiency protects pancreatic islet cells from cytokine-triggered apoptosis in vitro. (2013) *Journal of Cellular Physiology*, 2013, 228 (7): 1568-1576.
2. Saksida T., **Vujić M.**, Nikolic I., Stojanovic I., Haegeman G., Stosic-Grujicic S. Compound A, a selective glucocorticoid receptor agonist, inhibits immunoinflammatory diabetes, induced by multiple low doses of streptozotocin in mice. *British Journal of Pharmacology*, 2014, 171 (24):5898-5909.
3. Nikolic I., Saksida T., Mangano K., **Vujić M.**, Stojanovic I., Nicoletti F., Stosic-Grujicic S. Pharmacological application of carbon monoxide ameliorates islet-directed autoimmunity in mice via anti-inflammatory and anti-apoptotic effects. *Diabetologia*, 2014, 57 (5): 980-990.

#### M-22

1. Nikolic I., **Vujić M.**, Saksida T., Berki T., Stosic-Grujicic S., Stojanovic I. The role of endogenous glucocorticoids in glucose metabolism and immune status of MIF-deficient mice. *European Journal of Pharmacology*, 2013, 714 (1-3): 498-506.
2. **Vujić M.**, Nikolic I., Krajnovic T., Cheng K.-F., Vanpatten S., He M., Stosic-Grujicic S., Stojanovic I., Al-Abed Y., Saksida T. Novel inhibitors of macrophage migration inhibitory factor prevent cytokine-induced beta cell death. *European Journal of Pharmacology*, 2014, 740: 683-689.

#### M-23

1. Nikolic I., **Vujicic M.**, Stojanovic I., Stosic-Grujicic S., Saksida T. Carbon Monoxide-Releasing Molecule-A1 Inhibits Th1/Th17 and Stimulates Th2 Differentiation In vitro. *Scandinavian Journal of Immunology*, 2014, 80 (2): 95-100.
2. **Vujicic M.**, Senerovic L., Nikolic I., Saksida T., Stosic-Grujicic S., Stojanovic I. The critical role of macrophage migration inhibitory factor in insulin activity. *Cytokine*, 2014, 69 (1): 39-46.
3. Nikolic I., Saksida T., **Vujicic M.**, Stojanovic I., Stosic-Grujicic S. Anti-diabetic actions of carbon monoxide-releasing molecule (CORM)-A1: Immunomodulation and regeneration of islet beta cells. *Immunology Letters*, 2015, 165 (1): 39-46.
4. **Milica Vujičić**, Tamara Saksida, Ivana Nikolić, Ivana Stojanović, Stanislava Stošić-Grujičić. *In vitro* dissection of anti-diabetic effects of Compound a, a dissociating glucocorticoid receptor ligand. *Archives of Biological Sciences*, 2015, 67 (3):941-947.

B2. Конгресна саопштења на скуповима међународног значаја

#### **M-34**

1. **Vujičić M.**, Nikolić I, Saksida T, Stošić-Grujičić S, Stojanović I. The role of glucocorticoids in glucose intolerance development in MIF-deficient mice. School of Translational Immunology COST Action ENTIRE (BM0907), Belgrade, Serbia 19-21 September 2012.
2. Stojanovic I, Nikolic I, Saksida T, **Vujicic M.**, Stosic-Grujicic S. The role of glucocorticoids in glucose intolerance development in MIF-deficient mice. 48th EASD Annual Meeting, Berlin, Germany 1-5. October 2012.
3. I. Nikolic, T. Saksida, **M.Vujicic**, I. Stojanovic, F. Nicoletti, S. Stosic-Grujicic. Carbon monoxide-releasing molecule CORM-A1 ameliorates islet-directed autoimmunity in mice. 49th EASD Annual Meeting, 23-27 September, Barcelona, Spain, Abstract Book, p228
4. **M. Vujicic**, T. Saksida, I. Nikolic, I. Stojanovic, S. Stosic-Grujicic. Anti-diabetic properties of compound A, a selective glucocorticoid receptor agonist. 4th European Congress of Immunology, 6-9 September, 2015, Vienna, Austria, Abstract Book, p112.

#### **МИШЉЕЊЕ И ПРЕДЛОГ КОМИСИЈЕ**

Анализа докторске дисертације кандидаткиње **Милице Вујичић** под насловом „Утицај воденог, метанолног и етил-ацетатног екстракта грчког органа *Origanum vulgare* ssp. *hirtum* на дијабетес тип 1 индукован вишеструким малим дозама стрептозотоцина код C57BL/6 мишева” показује да је она у својој докторској тези успешно реализовала постављене циљеве истраживања кроз свеобухватан и одлично



конципиран експериментални рад. Докторска дисертација представља оригиналан научни рад у области имунологије који истражује могућност профилактичке и терапијске модуларације патогенезе дијабетеса тип 1. Ова болест комплексне етиологије која погађа превасходно децу настаје услед аутоимунске деструкције бета ћелија панкреаса и самим тим недостатка инсулина. Одликује се хроничном инфламацијом у панкреасу. С обзиром на то да лек за дијабетес тип 1 не постоји, а да су биљке богат извор анти-инфламацијских супстанци, предмет ове докторске дисертације био је испитивање потенцијалног модуларног ефекта различито припремљених екстраката грчког оригана у патогенези дијабетеса тип 1. Детаљно изучавање механизма дејства ефикасних типова екстракта оригана довело је до сазнања да метанолни екстракт превасходно делује инхибиторно на инфламацијске ћелије стечене имуности, док етил-ацетатни екстракт омета патогене ћелије како урођене тако и стечене имуности у циљном ткиву (панкреасу). Ови резултати омогућавају потенцијалну примену ових екстраката оригана у лечењу дијабетеса тип 1 у људи.

Самосталност у планирању и експерименталној реализацији истраживања, као и у тумачењу и критичком разматрању резултата које је кандидаткиња у раду показала, говоре о добром познавању научне области којој обрађена проблематика припада. Као резултат, истраживања приказана у овој дисертацији су публикована у два научна рада, док кандидаткиња има и девет научна рада из уже научне области. Комисија са задовољством констатује да је имала прилику да анализира вредан и оригиналан научни допринос младог истраживача. Имајући у виду квалитет докторске дисертације кандидаткиње Милице Вујичић „Утицај воденог, метанолног и етил-ацетатног екстракта грчког оригана *Origanum vulgare ssp. hirtum* на дијабетес тип 1 индукован вишеструким малим дозама стрептозотоцина код C57BL/6 мишева”, допринос ове дисертације у смислу приближавања открићу правог терапијског модалитета дијабетеса тип 1, перспективу даљих истраживања у овој области, те креативност и личне квалитете кандидаткиње, као и број објављених научних радова, Комисија има задовољство да предложи Наставно-научном Већу Биолошког факултета Универзитета у Београду да прихвати овај реферат и одобри јавну одбрану докторске дисертације и стицање академског звања доктора биолошких наука.

#### КОМИСИЈА:

---

Др Ивана Стојановић, научни саветник,  
Институт за биолошка истраживања „Синиша  
Станковић“, Универзитет у Београду, ментор

---

Др Милена Катарановски,  
редовни професор, Биолошки факултет,  
Универзитет у Београду

---

Др Драгана Декански, виши научни сарадник,  
„Галеника а.д.“, Београд, члан

У Београду, 14. октобра 2016. године.