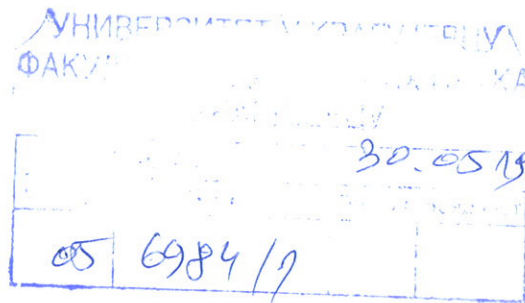


УНИВЕРЗИТЕТ У КРАГУЈЕВЦУ
ФАКУЛТЕТ МЕДИЦИНСКИХ НАУКА
НАСТАВНО-НАУЧНОМ ВЕЋУ



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

На седници Већа за медицинске науке Универзитета у Крагујевцу, одржаној 14.05.2019. године, одлуком бр. IV-03-385/24 формирана је Комисија за оцену и одбрану завршене докторске дисертације под називом „Утицај галектина-3 на развој експерименталног аутоимунског енцефаломијелитиса код мишева инфицираних *Cytomegalovirus*-ом” кандидата др Бојане Стојановић, у следећем саставу:

1. Проф. др Миодраг Лукић, редовни професор - емеритус Универзитета у Крагујевцу за ужу научну област Микробиологија и имунологија, председник
2. Проф. др Данило Војводић, редовни професор Медицинског факултета Војномедицинске академије Универзитета одбране у Београду за ужу научну област Имунологија, члан
3. Проф. др Небојша Арсенијевић, редовни професор Факултета медицинских наука Универзитета у Крагујевцу за ужу научну област Микробиологија и имунологија и Онкологија, члан

Комисија је прегледала и проучила докторску дисертацију кандидата др Бојане Стојановић 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 др Бојане Стојановић под називом „Утицај галектина-3 на развој експерименталног аутоимунског енцефаломијелитиса код мишева инфицираних *Cytomegalovirus*-ом”, урађена под менторством проф. др Марије Миловановић, ванредног професора Факултета медицинских наука Универзитета у Крагујевцу за ужу научну област Микробиологија и имунологија, представља оригиналну научну студију која се бави улогом и значајем галектина-3 у патогенези експерименталног аутоимунског енцефаломијелитиса код мишева инфицираних *Cytomegalovirus*-ом.

Мултипла склероза (МС) је хронична инфламацијска, демијелинизирајућа болест централног нервног система (ЦНС) коју карактеришу запаљенске лезије, демијелинизација, губитак аксона, а одликује се различитим клиничким током, патолохистолошким и запаљенским обрасцима. Инфекција је један од најважнијих фактора средине која има узрочну улогу у патогенези мултипле склерозе. Експериментални аутоимунски енцефаломијелитис (ЕАЕ) је модел за проучавање мултипле склерозе, који се индукује код осетљивих животиња активном имунизацијом мијелинским антигенима и адјувансом. ЕАЕ се веома дуго користи као модел за проучавање учешћа појединих компоненти имунског система у развоју аутоимунског процеса у ЦНС-у. Т лимфоцити активирани енцефалотигеном на периферији се диференцирају у инфламацијске помагачке Т лимфоците који су способни да прођу крвно-моздану баријеру, где препознају сродне циљне антигене и иницирају инфламацијску каскаду која изазива оштећење ткива.

Галектин-3 припада групи убиквитарних лектина и најпре је идентификован као површински антиген кога испољавају перитонеални макрофаги мишева под утицајем триогликолата и означен као Mac-2. Овај лектин експримирају ћелије имунског система и игра различиту улогу у патогенези инфективних и инфламацијских болести и тумора. *Cytomegalovirus* (CMV), који је сврстан у субфамилију *Betaherpesvirinae* успоставља доживотну латентну инфекцију домаћина. CMV вирион садржи двоструки ДНК вирусни геном, кодира око 230-250 протеина, од којих многи имају имуно-регулаторне улоге. CMV перзистира у мијелоидним прогениторским ћелијама и моноцитима. Када ове ћелије уђу у висцерални паренхим и диферентују се у макрофаге или мијелоидне дендритске ћелије, латентни вирус се реактивира и стимулише продукцију проинфламацијских медијатора који подстичу активацију Т лимфоцита и на тај начин модулише имунски одговор

домаћина. CMV инфицира различите ћелије, укључујући фибробласте, епителне, ендотелне ћелије, хепатоците и глатко мишићне ћелије. CMV код примаоца трансплантата органа и пацијената са AIDS-ом може да изазове тежак облик хепатитиса и дисфункцију јетре. Мишји цитомегаловирус (MCMV) изазива хроничну инфекцију јетре са иницијалним хистолошким и серолошким доказима хепатичне инфламације и оштећења јетре.

Резултати овог истраживања указују да галектин-3 утиче на развој имунског одговора на MCMV, па тако слезине инфицираних C57BL/6 мишева са делецијом гена за Gal-3 садрже мањи проценат инфламацијских мијелоидних ћелија, а након елиминације вируса, 11 дана после инфекције, садрже већи проценат инфламацијских NK ћелија што је удружено са већим процентом инфламацијских CD8+T лимфоцита у ЦНС-у и прекидом атенуације ЕАЕ изазваног имунизацијом пептидом MOG₃₅₋₅₅. Галектин-3 штити хепатоците од апоптозе и некроптозе које изазива MCMV посредством TNF- α и тако смањује оштећење јетре изазвано инфекцијом цитомегаловирусом.

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

Претрагом доступне литературе прикупљене детаљним и систематским претраживањем биомедицинских база података „Medline“ и „KoBSON“, уз коришћење одговарајућих кључних речи: „*Experimental autoimmune encephalomyelitis*“, „*murine cytomegalovirus (MCMV) infection*“, „*galectin 3*“, „*C57BL/6 mice*“, „*hepatitis*“, „*hepatocyte death*“, „*TNF- α* “, нису пронађене студије сличног дизајна и методолошког приступа. Сходно наведеном, Комисија констатује да докторска дисертација кандидата др Бојане Стојановић под називом „Утицај галектина-3 на развој експерименталног аутоимунског енцефаломијелитиса код мишева инфицираних *Cytomegalovirus*-ом“ представља резултат оригиналног научног рада.

2.3. Преглед остварених резултата рада кандидата у одређеној научној области

А. Лични подаци

Др Бојана Стојановић, рођена 12.04.1988. године у Призрену. Основну школу и Средњу медицинску школу „Сестре Нинковић“ завршила је у Крагујевцу. Факултет медицинских наука Универзитета у Крагујевцу, уписала је школске 2006/07. године, и дипломирала је 2012.године, са просечном оценом 9,51 (девет и 51/100) и тиме стекла

звање доктор медицине. Након завршених студија, обавила је обавезан лекарски стаж и положила стручни испит за доктора медицине у априлу 2013. године. Докторске академске студије, изборно подручје Имунологија, инфекција и инфламација уписала је школске 2012/13. године на Факултету медицинских наука у Крагујевцу. Положила је усмени докторски испит 31.07.2014 са оценом 10 (десет). Активно учествује у извођењу експеримената у Центру за молекулску медицину и истраживање матичних ћелија у оквиру два макро пројекта Факултета медицинских наука Универзитета у Крагујевцу:

1. МП 01-14 „Галектин 3, IL-33R и инфекције у имунопатогенези инфламаторних болести“
2. МП 02-14 „Испитивање цитотоксичног дејства биоактивних супстанци и имуномодулација тумора“

Од 06.12.2013 године, запослена је на Факултету медицинских наука као сарадник у настави за ужу научну област Патолошка физиологија. Од 07.04.2016 године, изабрана у звање асистента за ужу научну област Патолошка физиологија. Говори енглески језик и познаје рад на рачунару.

Кандидат је аутор више оригиналних научних радова и први аутор у једном раду објављеном у часопису индексираним на *SCI* листи. Резултати рада наведеног под редним бројем 1 саставни су део докторске дисертације, чиме је кандидат испунио услов за одбрану докторске дисертације.

Тема докторске дисертације под називом „Утицај галектина-3 на развој експерименталног аутоимунског енцефаломијелитиса код мишева инфицираних *Cytomegalovirus*-ом“, прихваћена је 2016. године на Факултету медицинских наука Универзитета у Крагујевцу.

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

Кандидат др Бојана Стојановић остварила је 48.5 бодова по основу радова објављених у целини у међународним или домаћим часописима, бодованих према члану 177. Статута факултета:

1. **Stojanovic B**, Milovanovic J, Arsenijevic A, Stojanovic B, Strazic Geljic I, Arsenijevic N, Jonjic S, Lukic ML, Milovanovic M. Galectin-3 Deficiency Facilitates TNF- α -

- Dependent Hepatocyte Death and Liver Inflammation in MCMV Infection. *Front Microbiol.* 2019 Feb 8;10:185. **M21=8 бодова**
2. Arsenijevic A, Milovanovic M, Milovanovic J, **Stojanovic B**, Zdravkovic N, Leung PS, Liu FT, Gershwin ME, Lukic ML. Deletion of Galectin-3 Enhances Xenobiotic Induced Murine Primary Biliary Cholangitis by Facilitating Apoptosis of BECs and Release of Autoantigens. *Sci Rep* 2016; 6:23348. **M21=8 бодова**
 3. Milovanovic J, Popovic B, Milovanovic M, Kvestak D, Arsenijevic A, **Stojanovic B**, Tanaskovic I, Krmpotic A, Arsenijevic N, Jonjic S, Lukic ML. Murine Cytomegalovirus Infection Induces Susceptibility to EAE in Resistant BALB/c Mice. *Front Immunol.* 2017; 8:192. **M21=8 бодова**
 4. Stojanovic B, Jovanovic I, **Stojanovic BS**, Stojanovic MD, Gajovic N, Radosavljevic G, Pantic J, Arsenijevic N, Lukic ML. Deletion of Galectin-3 attenuates acute pancreatitis in mice by affecting activation of innate inflammatory cells. *Eur J Immunol.* 2019 Mar 20. **M21=8 бодова**
 5. Nikolić MV, Mijajlović MŽ, Jevtić VV, Ratković ZR, Novaković SB, Bogdanović GA, Milovanović J, Arsenijević A, **Stojanović B**, Trifunović SR, Radić GP. Cytotoxicity of copper(II)-complexes with some S-alkyl derivatives of thiosalicylic acid. Crystal structure of the binuclear copper(II)-complex with S-ethyl derivative of thiosalicylic acid. *Journal of Molecular Structure* 2016; 1116: 264-71. **M23=3 бода**
 6. Mijajlović M, Nikolić MV, Jevtić VV, Ratković ZR, Milovanović J, Arsenijević A, **Stojanović B**, Novaković SB, Bogdanović GA, Trifunović SR, Radić GP. Cytotoxicity of platinum (IV) and palladium (II) complexes with meso-1,2-diphenyl-ethylenediamine-N, N'-di-3-propanoic acid. Crystal structure of [Pd (1, 2-dpheddp)] complex. *Macedonian Journal of Chemistry and Chemical Engineering* 2016; 35 (1):79-86. **M23=3 бода**
 7. Milovanovic J, Arsenijevic A, **Stojanovic B**, Milovanovic M, Popovic B, Jonjic S, Arsenijevic N, Lukic ML. Latent Murine Cytomegalovirus Infection Contributes to EAE Pathogenesis. *Ser J Exp Clin Res* 2014; 15 (4): 183-190. **M52=1,5 бодова**
 8. Arsenijevic A, Milovanovic J, **Stojanovic B**, Milovanovic M, Gershwin E, Leung P, Arsenijevic N, Lukic ML. Xenobiotic induced model of primary biliary cirrhosis. *Ser J Exp Clin Res* 2014; 15 (3): 145-150. **M52=1,5 бодова**

9. **Stojanovic B**, Milovanovic J, Arsenijevic A, Milovanovic M, Lukic ML. Regulatory role of peritoneal B cells in EAE. Ser J Exp Clin Res.2016; 17 (2): 4-9. **M51=1,5 бодова**
10. Besser Silconi Ž, Benazic S, Milovanovic J, Arsenijevic A, **Stojanovic B**, Milovanovic M, Kanjevac T. Platinum complexes and their anti-tumour activity against chronic lymphocytic leukaemia cells. Ser J Exp Clin Res 2015; 16 (3): 181-186. **M51=1,5 бодова**
11. Benazic S, Besser Silconi Z, Milovanovic J, Arsenijevic A, **Stojanovic B**, Milovanovic M, Kanjevac T. Zinc and gold complexes in the treatment of breast cancer. Ser J Exp Clin Res 2015; 17 (1): 55-60. **M51=1,5 бодова**
12. Jurisevic M, Radosavljevic G, Arsenijevic A, Milovanovic M, Gajovic N, Djordjevic D, Milovanovic J, **Stojanovic B**, Ilic A, Sabo T, Kanjevac T. Platinum complexes with edda (ethylenediamine-N,N'-diacetate) ligands as potential anticancer agents. Serb J Exp Clin Res.2016; 17(4): 285-95. **M51=1,5 бодова**
13. Tomović DLj, Bukonjić AM, Kočović A, Nikolić MV, Mijajlović MŽ, Jevtić VV, Ratković ZR, Arsenijević AN, Milovanović JZ, **Stojanović B**, Trifunović SR, Radić GP. Synthesis, characterization and cytotoxicity of binuclear copper(II)-complexes with some S-alkenyl derivatives of thiosalicylic acid. Serb J Exp Clin Res 2017; 18 (1): 13-18. **M51=1,5 бодова**

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

Сprovedено истраживање усклађено са пријављеном темом докторске дисертације. Циљеви истраживања и примењена методологија идентични су са одобреним у пријави тезе. Наслов докторске дисертације и урађеног истраживања се поклапају. Докторска дисертација кандидата др Бојане Стојановић садржи следећа поглавља: увод, циљ студије, материјал и методе, резултати, дискусија, закључци и референце. Написана је на 148 страна и садржи 11 слика, 50 графикона и 6 схема. Поглавље Референце садржи 295 цитираних библиографских јединица из научних публикација.

У уводном делу и теоретском разматрању, кандидат је на свеобухватан, јасан и прецизан начин, цитирајући релевантну литературу изложио актуелна сазнања о цитомегаловирусу, галектину 3, патогенези мултипле склерозе, експерименталног аутоимунског енцефаломијелитиса и хепатитиса индукованог цитомегаловирусом, и о улози CMV у патогенези мултипле склерозе и ЕАЕ.

Циљеви и хипотезе истраживања јасно су изложени и дефинисани у складу са одобреним приликом пријаве тезе. Главни циљ истраживања је проучавање утицаја галектина-3 на развој имунског одговора на *Cytomegalovirus* и последични утицај на оштећење јетре изазвано вирусном инфекцијом и на развој експерименталног аутоимунског енцефаломијелитиса индукованог имунизацијом пептидом MOG₃₅₋₅₅ коришћењем Gal-3 позитивних C57BL/6 мишева (WT) и Gal-3 дефицијентних мишева (Gal-3 KO).

Материјал и методологија рада су детаљно и прецизно формулисани и истоветни су са наведеним и одобреним приликом пријаве дисертације. Све технике коришћене у студији су детаљно описане.

Резултати истраживања су систематично приказани и добро документовани. Показано је да слезине Gal-3 дефицијентних мишева садрже мањи проценат дендритских ћелија (CD11c+ и CD11c+CD11b+) и активираних макрофага (F4/80+CD86+, F4/80+MHCII+, F4/80+CD40+), а након елиминације вируса, 11 дана после инфекције садрже већи проценат инфламацијских (IFN- γ + и IL-17+) NK и NKT ћелија. MCMV инфекција повећава проценат инфламацијских ефекторско-меморијских (IFN- γ +CD4+CD28-) лимфоцита у периферној крви Gal-3 KO мишева инфицираних цитомегаловирусом и имунизованих пептидом MOG₃₅₋₅₅. Инфекција цитомегаловирусом укида атенуацију EAE код Gal-3 KO мишева па они након имунизације пептидом MOG₃₅₋₅₅ и након инфекције цитомегаловирусом развијају болест сличну оној коју развијају неинфицирани имунизовани C57BL/6 WT мишеви. MCMV инфекција смањује проценат и број проинфламацијских CD4+ T лимфоцита у мозгу WT и Gal-3 KO мишева имунизованих пептидом MOG₃₅₋₅₅. Дефицијенција галектина-3 је удружена са повећањем процента и броја проинфламацијских CD8+ T лимфоцита и смањењем процента и броја антиинфламацијских CD8+ T лимфоцита у мозгу инфицираних мишева имунизованих пептидом MOG₃₅₋₅₅. Дефицијенција галектина-3 је удружена са повећањем процента дендритских ћелија, макрофага, микроглије и повећањем класичне активације макрофага у мозгу мишева имунизованих пептидом MOG₃₅₋₅₅ након инфекције MCMV-ом. Дефицијенција галектина-3 је удружена са већим оштећењем јетре изазваним MCMV инфекцијом, судећи према вредностима хистолошког скорa и биохемијских параметара и већим титром вируса. Веће оштећење јетре инфицираних Gal-3 KO мишева није последица

веће активности NK ћелија. Јетре инфицираних C57BL/6 WT мишева садрже већи проценат и број NK ћелија и инфламацијских IFN- γ ⁺ NK ћелија и мањи титар вируса. Већа инфламација у јетри Gal-3 KO мишева је присутна и у случају инфекције MCMV Δ m157 вирусом који не активира NK ћелије. У јетрама Gal-3 KO мишева инфицираних MCMV-ом је већа експресија TNF- α , присутно је више апоптотских и некроптотских хепатоцита, а блокада TNF- α значајно смањује оштећење јетре Gal-3 KO мишева изазвано MCMV-ом. Примена екзогеног галектина-3 ублажава оштећење јетре Gal-3 KO мишева након MCMV инфекције, а примена инхибитора галектина-3 значајно повећава некрозу јетре WT мишева након инфекције MCMV-ом.

У поглављу „Дискусија“ детаљно су анализирани и објашњени резултати истраживања и упоређивани са литературним подацима из исте области. Добијени резултати су дискутовани у контексту сличних, различитих и конфликтних података о утицају галектина-3 и инфекције цитомегаловирусом на патогенезу ЕАЕ, мултипле склерозе и хепатитиса. Коментари резултата су језгровити, а начин приказивања података чини их веома прегледним и разумљивим.

Коришћена литература је адекватна по обиму, садржају и релевантности. Цитирано је 295 библиографских јединица из научних публикација.

На основу претходно изнетих чињеница, Комисија сматра да завршена докторска дисертација кандидата др Бојане Стојановић под називом „Утицај галектина-3 на развој експерименталног аутоимунског енцефаломијелитиса код мишева инфицираних *Cytomegalovirus*-ом“, по обиму и квалитету израде у потпуности одговара пријављеној теми дисертације.

2.5. Научни резултати докторске дисертације

На основу резултата истраживања може се закључити да инфекција цитомегаловирусом укида атенуацију ЕАЕ код Gal-3 KO. Gal-3 KO мишеви након имунизације пептидом MOG₃₅₋₅₅ и након инфекције цитомегаловирусом развијају болест сличну оној коју развијају неинфицирани имунизовани C57BL/6 WT мишеви. Галектин-3 штити хепатоците од апоптозе и некроптозе посредоване TNF- α и тако смањује оштећење јетре изазвано инфекцијом цитомегаловирусом. Примена екзогеног галектина-3 ублажава

оштећење јетре Gal-3 KO мишева изазвано MCMV инфекцијом, а примена инхибитора галектина-3 значајно повећава некрозу јетре WT мишева након инфекције MCMV-ом.

2.6. Примењивост и корисност резултата у теорији и пракси

Резултати овог истраживања дају оригиналан и важан допринос разумевању улоге галектина 3 у патогенези ЕАЕ код мишева инфицираних цитомегаловирусом и у патогенези хепатитиса индукованог цитомегаловирусом. Добијени резултати показују протективну улогу галектина 3 у експерименталном аутоимунском енцефаломијелитису и хепатитису индукованом цитомегаловирусом, што може имати значај у креирању нових терапијских приступа.

2.7. Начин презентирања резултата научној јавности

Резултати ове докторске дисертације објављени су у једном оригиналном научном раду у међународном (M21) часопису. Резултати су такође представљени у форми презентација и оралног излагања на више значајних међународних конференција из области имунологије.

ЗАКЉУЧАК

Комисија за оцену и одбрану завршене докторске дисертације кандидата др Бојане Стојановић под називом „Утицај галектина-3 на развој експерименталног аутоимунског енцефаломијелитиса код мишева инфицираних *Cytomegalovirus*-ом” сматра да је истраживање у оквиру тезе базирано на актуелним сазнањима и валидној методологији и да је прецизно и адекватно постављено и спроведено.

Комисија сматра да докторска дисертација кандидата др Бојане Стојановић, под менторством проф. др Марије Миловановић, представља оригинални научни допринос у потпунијем сагледавању утицаја галектина 3 у патогенези и развоју експерименталног аутоимунског енцефаломијелитиса код мишева инфицираних *Cytomegalovirus*-ом и у патогенези и развоју хепатитиса индукованог *Cytomegalovirus*-ом.

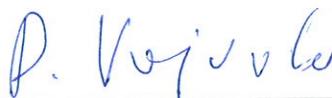
Комисија са задовољством предлаже Наставно-научном већу Факултета медицинских наука Универзитета у Крагујевцу да докторска дисертација под називом „Утицај галектина-3 на развој експерименталног аутоимунског енцефаломијелитиса код мишева инфицираних *Cytomegalovirus*-ом”, кандидата др Бојане Стојановић буде позитивно оцењена и одобрена за јавну одбрану.

ЧЛАНОВИ КОМИСИЈЕ:

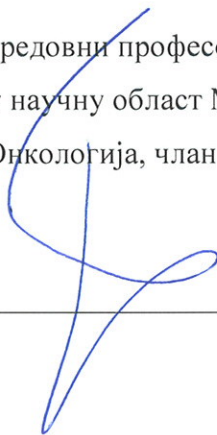
Проф. др Миодраг Лукић, редовни професор - емеритус Универзитета у Крагујевцу за ужу научну област Микробиологија и имунологија, председник



Проф. др Данило Војводић, редовни професор Медицинског факултета Војномедицинске академије Универзитета одбране у Београду за ужу научну област Имунологија, члан



Проф. др Небојша Арсенијевић, редовни професор Факултета медицинских наука Универзитета у Крагујевцу за ужу научну област Микробиологија и имунологија и Онкологија, члан



У Крагујевцу, 17.05.2019. године