Одлуком Наставно-научног вијећа Медицинског факултета у Фочи, Универзитета у Источном Сарајеву, број 01-03-193 oд 12.03.2025. године, именована је Комисија за оцјену и одбрану урађене докторске дисертације кандидата др Љиљана Козић под насловом **"Утицај селективног агонисте А3 рецептора аденозина, пиклиденозона, на фенотипске и функционалне карактеристике хуманих ћелија периферне крви, *in vitro*"** (у даљем тексту: Комисија1) у сљедећем саставу:

1. Проф. др Милица Лабудовић Боровић, редовни професор, ужа научна област Хистологија и ембриологија, Медицински факултет Универзитета у Београду, предсједник Комисије
2. Проф. др Синиша Ристић, редовни професор, ужа научна област Физиологија, Медицински факултет Фоча, Универзитет у Источном Сарајеву, члан Комисије
3. Проф. др Драгана Пухало Сладоје, ванредни професор, ужа научна област Медицинска хемија, Медицински факултет Фоча, Универзитет у Источном Сарајеву, члан Комисије

Kомисија је прегледала и оцијенила докторску дисертацију и о томе подноси Наставно- научном вијећу Медицинског факултета у Фочи, Универзитета у Источном Сарајеву, сљедећи

# И З В Ј Е Ш Т А Ј

**о оцјени урађене докторске дисертације**

|  |
| --- |
| 1. Значај и допринос докторске дисертације са становишта актуелног стања у одређеној научној области |
| Урађена докторска дисертација, у којој је испитан утицај селективног агонисте A3 рецептора аденозина, пиклиденозона, на фенотипске и функционалне карактеристике хуманих ћелија периферне крви *in vitro*, обрађује проблематику која је са научног аспекта актуелна и значајна. Агонисти A3 рецептора као група лијекова представљају актуелну тему истраживања у посљедње двије деценије Хумани A3 рецептор је G-протеински рецептор који пролази кроз ћелијску мембрану седам пута (седам трансмембранских региона). Његов N-терминални крај налази се на екстрацелуларној страни, док је C-терминални крај окренут ка цитозолу. Рецептор садржи серинске и треонинске остатке који представљају мјеста фосфорилације.. С обзиром на експресију рецептора у физиолошким и патолошким условима, истраживани су различити агонисти, антагонисти и модулатори A3 рецептора. У посљедње двије деценије, A3 аденозински рецептор бива препознат као потенцијална терапијска мета у борби против инфламације и тумора. Откривени су високи нивои експресије A3 рецептора у мононуклеарним и туморским ћелијама пацијената са карциномом дојке, дебелог цријева, плућа, панкреаса и меланома.  Осим што представља терапијски циљ, A3 рецептор бива препознат и као биолошки маркер болести, због прекомјерне експресије у ћелијама имунског система и туморским ћелијама у односу на здраве ћелије. Пиклиденозон (CF101, генеричког назива IB-MECA), молекулске тежине 544,73 Da, селективни је агонист A3 рецептора који се тренутно налази у III фази клиничких истраживања за лијечење псоријазе. Његова активност као оралног, противупалног и антиканцерогеног агенса тестирана је на више експерименталних анималних модела. У свим испитиваним моделима болести, примјена пиклиденозона изазвала је локално и системско смањење инфламацијског одговора, као и смањење хистопатолошких знакова обољења испитиване регије, попут улцерације и инфилтрације инфламаторним ћелијама. Иако постоје истраживања која сугеришу на антиинфламацијска и имуномодулацијска својства пиклиденозона, механизам његовог дејства на ћелије имунског система још увијек није у потпуности разјашњен. Кандидаткиња је као основне моделе користила неутрофилне гранулоците и мононуклеарне ћелије периферне крви *in vitro*, које су након изолације третиране растућим, нецитотоксичним концентрацијама пиклиденозона (250, 500 и 1000 nM). Неутрофилни гранулоцити и мононуклерне ћелије периферне крви представљају важне ћелије имунског система, али и битан дио патогенезе различитих обољења.  Увидом у резултате може се закључити да је пиклиденозон испољио антиинфламацијска својства у култури хуманих неутрофилних гранулоцита, кроз инхибицију оксидативног праска и нетозе, модулацију фенотипских карактеристика ћелија и инхибицију производње IL-8 и ензима азурофилних гранула — неутрофилне еластазе и мијелопероксидазе. Такође, резултати су по први пут показали да A3 агонист, пиклиденозон, инхибира пролиферацију мононуклеарних ћелија периферне крви у наномоларном опсегу. Антиинфламацијска и имуномодулацијска својства лијека показана су и кроз инхибицију производње проинфламацијских цитокина тумор-некротишући фактор алфа (TNF-α), интерлеукина 23 (IL-23), интерлеукина 36 (IL-36), као и Th1 цитокина интерферона гама (IFN-γ), Th2 цитокина интерлеукина 5 (IL-5) и Th17 цитокина интерлеукина 17 (IL-17) и стимулисањем продукцију антиинфламацијског цитокина интерлеукина 10 (IL-10). Оригиналност докторске дисертације огледа се управо у наведеним резултатима, који могу допринијети проширењу постојећих знања о примјени A3 агониста и потенцијално отворити нове могућности за клиничку примјену овог лијека. |

|  |
| --- |
|  |
| 2. Оцјена да је урађена докторска дисертација резултат оригиналног научног рада кандидата у одговарајућој научној области |
| Кандидаткиња је у свом истаживању коришћењем савремене и комплексне методологије добила значајне и оргиналне резултате који су показали антиинфламацијска својства пиклиденозона кроз инхибицију проинфламацијских својстава неутрофилних гранулоцита и мононуклерних ћелија периферне крви, чиме урађена докторска дисертација представља оригинално научно дјело. Овакви резултати до сада нису публиковани што ову дисертацију чини потпуно оригиналном. |
| 3. Преглед остварених резултата рада кандидата у одређеној научној области |
| Као што је већ истакнуто, кандидаткиња је током спроведеног истраживања добила значајне и оригиналне резултате. Показано је да пиклиденозон у нетоксичним концентрацијама инхибира продукцију реактивних кисеоничких радикала и нетозе код хуманих неутрофилних гранулоцита, док је исти ефекат поништен примјеном A3 антагонисте, MRS 1220.  Такође, пиклиденозон је инхибирао продукцију ензима азурофилних гранула, неутрофилне еластазе и мијелопероксидазе, као и продукцију интерлеукина (IL)-8. Лијек је модулирао фенотипске карактеристике неутрофилних гранулоцита. Поред тога, показана је инхибиција пролиферације мононуклеарних ћелија периферне крви у наномоларним концентрацијама. Додатно, пиклиденозон је инхибирао продукцију проинфламацијских цитокина IL-23, IL-36 и TNF-α, стимулисао продукцију антиинфламацијског цитокина IL-10 и инхибирао продукцију Th-поларишућих цитокина IFN-γ, IL-5 и IL-17. |
| 4. Оцјена о испуњености обима и квалитета у односу на пријављену тему (по поглављима)2 |
| У поглављу Увод, кандидаткиња је дала свеобухватан преглед релевантних сазнања из научне литературе која су у директној вези са предметом истраживања обухваћеним овом докторском дисертацијом. На систематичан и јасан начин, дефинисана су основна биохемијска и физиолошка својства аденозина, структура и улога A3 аденозинског рецептора, као и молекулска и фармаколошка својства пиклиденозона, селективног A3 агонисте, који представља централни терапијски агенс у овом истраживању.  У другом дијелу поглавља, кандидаткиња је детаљно описала основне карактеристике и класификацију неутрофилних гранулоцита и других леукоцита периферне крви, при чему је посебан акценат стављен на њихову улогу у физиолошким и патолошким процесима, нарочито у контексту проинфламацијских својстава. Поглавље се завршава прецизним формулисањем научног проблема који се односи на недовољно разјашњен утицај A3 агониста на фенотипске и функционалне карактеристике ћелија периферне крви. На тај начин, кандидаткиња је јасно указала на научну релевантност и потенцијални значај спроведеног истраживања за проширивање постојећих сазнања и дефинисање нових терапијских приступа. |

|  |
| --- |
| **Циљеви**  Циљеви истраживања су јасно постављени и усаглашени са хипотезама. Као основне циљеве истраживања кандидаткиња је поставила да се испита цитотоксични ефекат агонисте А3 рецептора, пиклиденозона, на хумане ћелије периферне крви, in vitro, да се испита ефекат лијекка на фенотипске карактеристике гранулоцита здравих даваоца, оксидатини прасак, продукцију NET-ова, продукцију цитокина (IL-8) , продукцију ензима мијелопероксидазе (MPO) и неутрофилне еластазе (NE) , те да се испита ефекат агонисте А3 рецептора аденозина, пиклиденозона, на функционалне карактеристике стимулисаних хуманих мононуклеарних ћелија периферне крви у смислу пролиферације, продукције проинфламацијских и имуномодулаторних цитокина и Тh поларизације.  **Материјал и методе**  Кандидаткиња је, у складу са свим етичким и научним принципима, спровела истраживање користећи савремену и валидну експерименталну методологију. Сагласност за извођење студије добијена је од стране Етичког одбора Медицинског факултета у Фочи, а сви испитаници су потписали информисани пристанак, чиме је осигурано поштовање етичких стандарда и права учесника. У дисертацији су прецизно и јасно описани сви кључни методолошки поступци и примјењени материјали. То укључује детаљан опис својстава пиклиденозона, као и навођење употребљених медијума и реагенаса. Посебна пажња посвећена је поступцима изолације и култивације хуманих ћелија периферне крви – неутрофилних гранулоцита и мононуклеарних ћелија. За процјену цитотоксичности пиклиденозона коришћени су валидни тестови, укључујући МТТ тест, као и цитофлуорометријски тест за детекцију апоптозе и некрозе. Испитивање пролиферације и фенотипских карактеристика спроведено је примјеном проточне цитофлуорометрије, како за неутрофилне гранулоците, тако и за мононуклеарне ћелије периферне крви. Поред тога, функционалне карактеристике испитиваних ћелија – укључујући продукцију цитокина, формирање неутрофилних екстрацелуларних замки (NET-ова) и продукцију реактивних кисеоничних врста – такође су детаљно анализиране. Све наведено указује на висок ниво научне релевантности спроведеног истраживања.  **Резултати**  Резултати су јасно приказани у виду табела и графикона, правилно су анализирани статистичким методама обраде података и адекватно и јасно су интерпретирани.  **Дискусија**  Кандидаткиња је изузетно стручно и компетентно анализирала и интерпретирала добијене резултате, при чему је показала висок ниво познавања области. Резултати су детаљно коментарисани и постављени у контекст постојећих научних сазнања, кроз поређење са релевантним налазима из литературе. На тај начин је омогућена објективна процјена значаја добијених резултата и њиховог доприноса унапређењу постојећих научних знања у области имунологије и фармакологије. Кандидаткиња је такође врло прецизно и аргументовано указала на методолошка ограничења студије, што говори у прилог научне објективности. Осим тога, истакла је правце будућих истраживања који произилазе из добијених резултата, указујући на потенцијалну примјену испитиваног лијека у различитим патолошким стањима и отварајући нове могућности за даља испитивања на пољу имунофармакологије.  **Закључци**  У овом поглављу кандидаткиња је указала на најважније налазе истраживања и јасно и таксативно навела најважније закључке докторске дисертације који представљају одговоре на сва питања постављена у циљевима истраживања.    **Литература**  У раду је цитирано 506 библиографских јединица из ове области, правилно наведених у  тексту и поглављу Литература. Више од 10% референци припадају онима објављених у  последњих 5 година. Докторска дисертација је по квалитету, обиму и сложености испунила циљеве и задатке постављене у пријави дисертације. |
| 5. Научни резултати докторске дисертације |
|  |

|  |
| --- |
| Оригинални научни допринос кандидаткиње у овом истраживању представља: доказ о нецитотоксичности пиклиденозона до концентрације лијека од 1000 nМ; доказивање инхибиторних ефектата пиклиденозона на оксидативни прасак, нетозу, продукцију ензима и цитокина од стране неутрофилних гранулоцита; приказ карактеристичног фенотипског профила неутрофилних гранулоцита под утицајем пиклиденозона; утицај пиклиденозона на инхибицију пролиферације, продукције проинфламацијских и антиинфламацијских цитокина и модулације Th поларизацијскијског капацитета мононуклераних ћелија периферне крви. |
| 6. Примјењивост и корисност резултата у теорији и пракси3 |
| Захваљујући високој експресији А3 аденозинских рецептора у инфламацијским и туморским ћелијама у односу на здрава ткива, овај рецептор све више добија на значају као потенцијална терапијска мета у лијечењу различитих обољења. Истраживања спроведена на моделима инфламације и тумора указују на обећавајуће резултате након примјене пиклиденозона и других селективних агониста А3 рецептора, што је довело до њиховог укључивања у клиничка испитивања. Ипак, упркос позитивним налазима, у литератури су забиљежени и одређени контроверзни резултати који указују на могућа протуморска дејства ових лијекова. Такви налази наглашавају потребу за опрезом и за детаљним тумачењем резултата, уз уважавање сложене биолошке улоге А3 рецептора у различитим физиолошким и патолошким условима. Упркос бројним студијама о ефектима пиклиденозона, и даље постоји значајан недостатак података који се односе на његово дјеловање на компоненте имунског система, посебно на ћелије урођене и стечене имуности. Управо тај аспект је од посебне важности с обзиром на имуномодулацијски потенцијал пиклиденозона, који може бити кључан у ширем разумјевању његовог терапијског профила. Резултати представљени у овој докторској дисертацији, добијени кроз *in vitro* анализе, представљају значајан допринос постојећим сазнањима и могу послужити као основ за даља истраживања усмјерена ка дефинисању нових индикација за примјену пиклиденозона. |
| 7. Презентирање резултата научној јавности4 |
| Др Љиљана Козић је дио резултата из овог истраживања презентовала на Конгресу имунолога одржаном у Фочи у октобру 2024. године под називом „ Piclidenoson, selective agonist of the A3 receptor, modulates neutrophil function and phenotype: insights from an in vitro study“ Кандидаткиња је објавила оригинални научни рад под називом “ Anti-inflammatory properties of an A3 adenosine receptor agonist, piclidenoson, in a model of human peripheral blood mononuclear cell culture ” у часопису Војносанитетски преглед (IF:0.24) u марту 2025. године. (DOI: <https://doi.org/10.2298/VSP241004010K>). |
|  |
|
| 8. ЗАКЉУЧАК И ПРИЈЕДЛОГ5 |
| На основу детаљне анализе докторске дисертације под називом “ Утицај селективног агонисте А3 рецептора аденозина, пиклиденозона, на фенотипске и функционалне карактеристике хуманих ћелија периферне крви, *in vitro*”, комисија је једногласно закључила да је кандидаткиња изабрала актуелну и оригиналну тему истраживања коју је спровела поштујући све принципе научног рада и користећи савремене методе испитивања и анализе резултата. Добијени резултати, оригинални по свом садржају и интерпретацији, представљају значајан допринос савременој медицинској науци посебно у области ћелијске биологије и имунологије. На основу наведеног, Комисија са задовољством предлаже Научно-наставном вијећу Медицинског факултета у Фочи, Универзитета у Источном Сарајеву да прихвати извјештај о урађеној докторској дисертацији и одобри јавну одбрану докторске дисертације др Љиљани Козић, којом ће кандидат стећи звање доктора медицинских наука. |

Мјесто: Фоча Датум: 08.04.2025.

Комисија:

* 1. Проф. др Милица Лабудовић Боровић, редовни професор, ужа научна област Хистологија и ембриологија, Медицински факултет Универзитета у Београду, предсједник Комисије

\_\_\_\_\_\_\_\_\_\_\_\_\_\_\_\_\_\_\_\_\_\_\_\_\_\_\_\_\_\_\_\_\_\_\_\_\_\_\_\_\_\_\_\_\_\_\_\_\_\_\_\_\_\_\_\_\_\_\_\_\_\_\_\_\_\_\_\_\_\_\_\_

* 1. Проф. др Синиша Ристић, редовни професор, ужа научна област Физиологија, Медицински факултет Фоча, Универзитет у Источном Сарајеву, члан Комисије

\_\_\_\_\_\_\_\_\_\_\_\_\_\_\_\_\_\_\_\_\_\_\_\_\_\_\_\_\_\_\_\_\_\_\_\_\_\_\_\_\_\_\_\_\_\_\_\_\_\_\_\_\_\_\_\_\_\_\_\_\_\_\_\_\_\_\_\_\_\_\_\_

* 1. Проф. др Драгана Пухало Сладоје, ванредни професор, ужа научна област Медицинска хемија, Медицински факултет Фоча, Универзитет у Источном Сарајеву, члан Комисије

\_\_\_\_\_\_\_\_\_\_\_\_\_\_\_\_\_\_\_\_\_\_\_\_\_\_\_\_\_\_\_\_\_\_\_\_\_\_\_\_\_\_\_\_\_\_\_\_\_\_\_\_\_\_\_\_\_\_\_\_\_\_\_\_\_\_\_\_\_\_\_\_

1. Комисија мора бити именована у складу са чланом 40. Правилника о студирању на трећем циклусу студија на Универзитету у Источном Сарајеву
2. Испуњеност обима и квалитета у односу на пријављену тему, нарочио, треба да садржи: аналитички и системски прилаз у оцјењивању истраживачког постављеног предмета, циља и задатака у истраживању; испуњеност научног прилаз у доказивања тврдњи или претпоставки у хипотезама, са обрадом података.
3. Истаћи посебно примјењивост и корисност у односу на постојећа рејешења теорије и праксе.
4. У складу са чланом 37. Правилника о студирању на трећем циклусу студија на Универзитету у Источном Сарајеву.
5. У закључку се, поред осталог, наводи и назив квалификације коју докторанд стиче одбраном тезе

\_\_\_\_\_\_\_\_\_\_\_\_\_\_\_\_\_\_\_\_\_\_\_\_\_\_\_\_\_\_\_\_\_\_\_\_\_\_\_\_\_\_\_\_\_\_\_\_\_\_\_\_\_\_\_\_\_\_\_\_\_\_\_\_\_\_\_\_\_\_\_\_ Издвојено мишљење[[1]](#footnote-1):

1. , у звању (НО , УНО

|  |  |  |  |  |
| --- | --- | --- | --- | --- |
|  | , | Универзитет |  | , |
| Факултет | у | , члан Комисије; |  |  |

Образложење:

1. Чланови комисије који се не слажу са мишљењем већине чланова комисије, обавезни су да у извештај унесу издовојено мишљење са образложењем разлога због се не слажу са мишљењем већине чланова комисије (члан

   комисије који је издвојио мишљење потписује се испод навода о издвојеном мишљењу) [↑](#footnote-ref-1)