

**УНИВЕРЗИТЕТ У КРАГУЈЕВЦУ**  
**ФАКУЛТЕТ МЕДИЦИНСКИХ**  
**НАУКА**  
**НАСТАВНО-НАУЧНОМ ВЕЋУ**

**1. Одлука Наставно-научног већа Факултета медицинских наука Универзитета у Крагујевцу**

Одлуком Наставно-научног већа Факултета медицинских наука Универзитета у Крагујевцу, број 01-12209/3-4 од 25.11.2015. године, именовани су чланови Комисије за оцену научне заснованости теме докторске дисертације кандидата **др мед. Александра Арсенијевића** под називом:

**"ЗНАЧАЈ ЕКСПРЕСИЈЕ ГАЛЕКТИНА-3 У ПАТОГЕНЕЗИ ПРИМАРНОГ БИЛИЈАРНОГ ХОЛАНГИТИСА КОД МИШЕВА"**

На основу одлуке Научно-наставног већа, формирана је Комисија у саставу:

1. Проф. др Миодраг Лукић, професор емеритус Универзитета у Крагујевцу за ужу научну област Микробиологија и имунологија, председник
2. Проф. др Данило Војводић, ванредни професор Медицинског факултета ВМА Универзитета одбране у Београду за ужу научну област Клиничка имунологија, члан
3. Доц. др Гордана Радосављевић, доцент Факултета медицинских наука Универзитета у Крагујевцу за ужу научну област Микробиологија и имунологија, члан

На основу увида у приложену документацију, Комисија подноси Наставно-научном већу Факултета медицинских наука Универзитета у Крагујевцу следећи

**ИЗВЕШТАЈ**

Кандидат **др мед. Александар Арсенијевић**, испуњава све услове предвиђене Законом о високом образовању и Статутом Факултета медицинских наука у Крагујевцу за израду докторске дисертације.

## 2.1. Биографија кандидата

### А. Лични подаци

Рођен 30.11.1986. године у Крагујевцу. Основну школу и Прву гимназију завршио у Крагујевцу. Интегрисане академске студије Медицинског факултета, Универзитета у Крагујевцу уписао 2005/2006. и успешно завршио 2012. године са просечном оценом 9,65. Школске 2012/13. уписао Докторске академске студије на Факултету медицинских наука у Крагујевцу, изборно подручје Имунологија, инфекција и инфламација. Положио је усмени докторски испит са оценом 10 (десет). Две године обављао посао сарадника у настави на предметима: Микробиологија и имунологија, Основи онкологије и Клиничка имунологија. Изабран је у звање асистента за ужу научну област Основи онкологије 2015. године.

### Б. Научно истраживачки рад

Кандидат, др мед. Александар Арсенијевић се активно бави научно-истраживачким радом у Центру за молекулску медицину и истраживање матичних ћелија, Факултета Медицинских наука у Крагујевцу. У мају 2013. године учествовао је у мултидисциплинарној школи „5<sup>th</sup> Course on Cytoskeleton: Cytoskeleton in Cell Organization“ на Институту Кири у Паризу.

Учесник је:

- Републичког пројекта Министарства просвете, науке и технолошког развоја:
  1. ОН 175069 „Молекулске детерминанте урођене имуности у аутоимунским болестима и канцерогенези“
- Макро пројеката 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“

### В. Подаци о објављеним радовима

B1. Радови објављени у часописима међународног значаја (Категорија M20)

1. V Zdravkovic ND, Jovanovic IP, Radosavljevic GD, **Arsenijevic AN**, Zdravkovic ND, Mitrovic SLj, Arsenijevic NN. Potential dual immunomodulatory role of VEGF in ulcerative colitis and colorectal carcinoma. Int J Med Sci. 2014;11(9):936-47, **M22 = 5 бодова**

B2. Зборници међународних скупова (Категорија M30)

1. Marija Z. Milovanovic, **A.N. Arsenijevic**, J.Z. Milovanovic, B. Stojanovic, N.N. Arsenijevic, M.L. Lukic. IL-33/ST2 axis mediates resistance to EAE by promoting regulatory B and tolerogenic dendritic cells. 15<sup>th</sup> International congress of immunology, Milan, Italy, August 2013. Abstract book, pp 152, **M34 = 0,5 бодова**
2. Jelena Milovanovic, Marija Milovanovic, **Aleksandar Arsenijevic**, Bojana Stojanovic, Branka Popovic, Nebojsa Arsenijevic, Stipan Jonjic, Miodrag L. Lukic. CMV infection facilitates EAE development in resistant BALB/c mice. Journal of Neuroimmunology, Vol. 275, Issues 1-2, p79–80. 2014. **M34 = 0,5 бодова**
3. Bojana Stojanovic, Jelena Milovanovic, **Aleksandar Arsenijevic**, Marija Milovanovic, Nebojsa Arsenijevic, Miodrag L. Lukic. IL-33/ST2 axis mediates resistance to EAE by promoting regulatory B and tolerogenic dendritic cells. Journal of Neuroimmunology, Vol. 275, Issues 1-2, p11–12. 2014. **M34 = 0,5 бодова.**
4. Bojana Stojanovic, Marija Milovanovic, **Aleksandar Arsenijevic**, Jelena Milovanovic, Branka Popovic, Stipan Jonjic, Nebojsa Arsenijevic, Miodrag L. Lukic. IL-33/ST2 axis

mediates resistance to EAE by promoting regulatory B and tolerogenic dendritic cells. 3<sup>rd</sup> Belgrade EFIS Symposium on Immunoegulation, Arandjelovac, Serbia, May 2015. Abstract book p 75. **M34=0,5 бодова**

5. **Aleksandar Arsenijevic**, Marija Milovanovic, Jelena Milovanovic, Bojana Stojanovic, Natasa Zdravkovic, Patrick Leung, Fu-Tong Liu, Erick Gershwin, Miodrag L. Lukic. Deletion of Galectin 3 Enhances Primary Biliary Cirrhosis in Mice by Enhanced Apoptosis of Biliary Epithelial Cells and Release of Autoantigens. 3<sup>rd</sup> Belgrade EFIS Symposium on Immunoegulation, Arandjelovac, Serbia, May 2015. Abstract book p 43. **M34=0,5 бодова**
6. Jelena Milovanovic, Marija Milovanovic, **Aleksandar Arsenijevic**, Bojana Stojanovic, Branka Popovic, Nebojsa Arsenijevic, Stipan Jonjic, Miodrag L. Lukic. CMV infection in neonatal and adult mice induces susceptibility to EAE in resistant BALB/c mice. 3<sup>rd</sup> Belgrade EFIS Symposium on Immunoegulation, Arandjelovac, Serbia, May, 2015. Abstract book p69. **M34=0,5 бодова**
7. J. Milovanovic, M. Milovanovic, **A. Arsenijevic**, B. Stojanovic, B. Popovic, N. Arsenijevic, S. Jonjic, M. L. Lukic. MCMV infection in neonatal and adult mice induces susceptibility to EAE in resistant BALB/c mice. 4<sup>th</sup> European Congress of Immunology (ECI) Vienna 2015. Abstract book, pp 105. **M34 = 0,5 бодова**

### V3. Часописи националног значаја (Категорија M50)

1. **Aleksandar Arsenijevic**, Jelena Milovanovic, Bojana Stojanovic, Marija Milovanovic, Eric M. Gershwin, Patrick Leung, Nebojsa Arsenijevic, Miodrag L. Lukic. Xenobiotic induced model of primary biliary cirrhosis. Ser J Exp Clin Res 2014; 15 (3): 145-150. **M52 = 1,5 бодова**
2. Jelena Milovanovic, **Aleksandar Arsenijevic**, Bojana Stojanovic, Marija Milovanovic, Branka Popovic, Stipan Jonjic, Nebojsa Arsenijevic, Miodrag L. Lukic. Latent Murine Cytomegalovirus Infection Contributes to EAE Pathogenesis. Ser J Exp Clin Res 2014; 15 (4): 183-190. **M52 = 1,5 бодова**
3. Žana Besser Silconi, Sasa Benazic, Jelena Milovanovic, **Aleksandar Arsenijevic**, Bojana Stojanovic, Marija Milovanovic, Tatjana Kanjevac. Platinum complexes and their anti-tumour activity against chronic lymphocytic leukaemia cells. Ser J Exp Clin Res 2015; 16 (3): 181-186. **M52 = 1,5 бодова**
4. Bojana Stojanovic, Jelena Milovanovic, **Aleksandar Arsenijevic**, Marija Milovanovic, Miodrag L. Lukic. Regulatory role of peritoneal B cells in EAE. Ser J Exp Clin Res. DOI: 10.1515/SJECR-2015-0048, **M52 = 1,5 бодова**
5. Sasa Benazic, Zana Besser Silconi, Jelena Milovanovic, **Aleksandar Arsenijevic**, Bojana Stojanovic, Marija Milovanovic, Tatjana Kanjevac. Zinc and gold complexes in the treatment of breast cancer. Ser J Exp Clin Res DOI: 10.1515/SJECR-2015-0044 **M52 = 1,5 бодова**

## 2.2. Наслов, предмет и хипотезе докторске тезе

### Наслов:

"Значај експресије галектина-3 у патогенези примарног билијарног холангитиса код мишева"

### Предмет:

Галектин-3 (Gal-3), члан фамилије лектина, присутан је у различитим типовима ћелијама укључујући и ћелије имунског система, модулира како стечени тако и урођени имунски одговор. Овај лектин је укључен у патогенезу многих хроничних инфламацијских и малигних болести. Епителне ћелије нормалних интрахепатичних жучних каналића конститутивно експримирају низак ниво галектина-3, а експресија се снажно повећава у

неким патолошким стањима као што је интрахепатични холангиокарцином. Овај молекул може имати проапоптотску али је много чешће саопштена његова антиапоптотска улога. Повећана експресија Gal-3 у кератиноцитима након излагања UV зрацима штити ове ћелије од апоптозе. Ови налази о функцији Gal-3 могу бити важни за патогенезу примарног билијарног холангитиса (енгл. Primary biliary cholangitis, PBC), коју карактерише имунски одговор на главни митохондријски аутоантиген- PDC-E2. Објављене су обимне студије о узроцима и развоју ове болести, укључујући и оне које истражују различите путеве укључене у имунопатологију болести код мишева и код људи. Подаци из поменутих студија постављају неколико основних принципа. Прво, јасно је документована генска предиспозиција. Друго, изгледа да имунски одговор игра различите улоге зависно од стадијума болести. Треће, иако је болест учесталија код жена то не мора бити последица само присуства полних хормона већ и епигенетских догађаја на X хромозому.

Интересантна је и претпоставка да билијарне епителне ћелије, ВЕС, нису само неми посматрачи развоја PBC, већ да под стимулацијом могу утицати на ток и снагу запаљењског процеса и то како експресијом различитих адхезионих и костимулацијских молекула тако и секрецијом проинфламацијских цитокина (TNF- $\alpha$ , IFN- $\gamma$  и IL-1). Показано је и да су ове ћелије подложне апоптози, а током овог процеса главни митохондријски антиген, PDC-E2, остаје неизмењен и бива експримиран на луменској површини епителних ћелија жучних каналића. Антиген/и потекли из апоптозома ослобођених из ВЕС могу активирати аутореактивне лимфоците. Такође, апоптотичне ВЕС могу стимулирати макрофаге да синтетишу и секретују проинфламацијске цитокине. Животињски модел болести подразумева имунизацију са 2-октаноичном киселином (2-ОА) повезаном са BSA. Овако изазвану благу болест карактерише повећана концентрација антимиохондријских антитела (AMAs) у серуму, портна инфламација и холангитис, што одговара и налазу код људи оболелих од PBC. До данас није истражена улога Gal-3 у патогенези болести а може се предпоставити да би у одсуство овог молекула болест имала тежи ток. Планирано истраживање могло би да понуди одговор каква је улога овог молекула у развоју PBC.

#### **Хипотезе:**

Одсуство Gal-3 чини C57BL/6 мишеве осетљивијим на развој експерименталног примарног билијарног холангитиса. Епителне ћелије билијарних каналића Gal-3 *knockout* мишева су остетљивије на апоптозу што подстиче инфламацију и повећава оштећење ткива.

### **2.3. Испуњеност услова за пријаву теме докторске дисертације**

У току студија објавио је више радова у часописима међународног и националног значаја, од чега један рад као први аутор чиме је испунио услов за пријаву докторске тезе.

Релевантна референца:

**Aleksandar Arsenijevic**, Jelena Milovanovic, Bojana Stojanovic, Marija Milovanovic, Eric M. Gershwin, Patrick Leung, Nebojsa Arsenijevic, Miodrag L. Lukic. Xenobiotic induced model of primary biliary cirrhosis. Ser J Exp Clin Res 2014; 15 (3): 145-150. **M52 = 1,5 бодова**

## 2.4. Преглед стања у подручју истраживања

Примарни билијарни холангитис је орган-специфична аутоимунска болест коју карактерише мултилинијски хуморални и целуларни имунски одговор на билијарне епителне ћелије и деструкција билијарних каналића. Механизам оштећења билијарних каналића није у потпуности разјашњен, а подаци публикованих студија указују да у том процесу учествују аутореактивни Т лимфоцити. Типична карактеристика болести је присуство анти-митохондријалних антитела у серуму. Имуноски одговор је усмерен на аутоантиген, E2 субјединицу дехидрогеназа комплекса 2-оксо-киселине (енг. *2-oxo-acid dehydrogenase complexes*, 2OADC-E2), а имунодоминантни епитоп овог антигена је E2 субјединица комплекса пируват дехидрогеназе (PDC-E2). Повећан ниво антитела специфичних за PDC-E2 у серуму је удружен са повећањем броја аутоантиген специфичних CD4+ Т и CD8+ Т лимфоцита у јетри.

Вишеструки имунски одговор на имунодоминантни аутоантиген, PDC-E2, указује да је прекид толеранције на PDC-E2 иницијални догађај у развоју примарног билијарног холангитиса. Етиологија болести није позната, али се болест развија код генетски предиспонираних особа изложених факторима околине као што су ксенобиотици и микроорганизми који модификују аутоантиген и тако доприносе прекиду толеранције.

Билијарне епителне ћелије активно учествују у патогенези болести. Експримирају костимулаторне молекуле, CD80 и CD86, и МНС II молекуле и продукују TNF- $\alpha$ , IFN- $\gamma$  и IL-1 након излагања проинфламацијским цитокинима, па њихова интеракција са Т лимфоцитима може да допринесе оштећењу. Различитом експресијом костимулаторних молекула и проинфламаторних цитокина епителне ћелије билијарних каналића модулишу степен и локализацију инфламаторног процеса.

Епителне ћелије малих билијарних каналића су услед смањене продукције пептида резистентних на протеазе изразито склоне апоптози. Јединствена карактеристика ових ћелија је да PDC-E2 након апоптозе остаје неизмењен и интерреагује са антимитохондријалним антителима. Неоантигени који потичу из апоптотских билијарних епителних ћелија могу да активирају и аутореактивне лимфоците. Код оболелих од примарног билијарног холангитиса се уочава повећана експресија PDC-E2 на апикалној површини билијарних епителних ћелија. Холангиоцити учествују у транспорту IgA до лумена каналића, а IgA специфична за PDC-E2 приликом проласка кроз холангиоците формирају комплексе са антигеном и тако доприносе излагању PDC-E2 на апикалној површини ћелија. Такође, IgA приликом проласка кроз холангиоците активирају каспазе и индукују апоптозу и тако подстичу приказивање аутоантигена на мембрани апоптотских везикула.

Gal-3 је присутан у ћелијама имунског система и различитим епителним ћелијама као што су ћелије слузнице желуца, колона, простате. Различита инфламаторна стања утичу на повећање експресија Gal-3 у овим ћелијама. Ћелије са повећаном експресијом Gal-3 у цитоплазми су мање осетљиве на апоптозу, а са друге стране делеција гена за Gal-3 повећава осетљивост кератиноцита, ћелија колоректалног карцинома, леукемије, карцинома бубрега, холангиокарцинома на индукцију програмиране ћелијске смрти. Такође, Gal-3 има улогу лиганда који се везује за рецепторе на фагоцитима који препознају апоптотске везикуле па тако подстиче уклањање апоптотичних ћелија. Према томе Gal-3 би могао на најмање два начина да утиче на патогенезу примарног билијарног холангитиса, кроз контролу апоптозе епителних ћелија билијарних каналића које имају централну улогу у ослобађању аутоантигена и кроз контролу уклањања апоптотских везикула које

експримирају интактне аутоантигене. Значајну улогу у презентацији аутоантигена и активацији Т лимфоцита имају дендритске ћелије, а подаци о утицају Gal-3 на функцију дендритских ћелија које су контрадикторни.

За сада у литератури нема података о утицају одсуства/присуства Gal-3 на патогенезу примарног билијарног холангитиса.

## **2.5. Значај и циљ истраживања са становишта актуелности у одређеној научној области**

### **Главни циљ истраживања**

Основни циљ овог истраживања је да се утврди улога Gal-3 у патогенези РВС коришћењем мишева дефицијентних у експресији Gal-3.

У складу са основним циљем постављени су и следећи експериментални задаци:

1. Утврдити утицај недостатка гена за Gal-3 на тежину болести, мерењем параметара РВС
2. Испитати разлике у саставу инфилтрата у јетри мишева са делецијом гена за Gal-3 и мишева који имају функционални ген за Gal-3
3. Испитати утицај Gal-3 на функционални статус дендритских ћелија у инфилтратима јетре мишева имунизованих ксенобиотиком
4. Упоредити серумске цитокинске профиле и доминантан имунски одговор (Th1, Th2 и Th17) лимфоцита који инфилтришу јетру имунизованих Gal-3 дефицијентних и WT мишева
5. Истражити везу између експресије Gal-3, степена апоптозе ВЕС и тежине болести

## **2.6. Веза истраживања са досадашњим истраживањима**

Галектин 3 је протеин који може да буде присутан у цитоплазми ћелија у мировању, једру ћелија које се деле, а секретује се и у екстрацелуларни простор. Gal-3 има важну улогу у контроли различитих биолошких функција, укључен је у обраду mRNA, регулише ћелијски циклус и има дуалну улогу у модулацији ћелијске адхезије и имунских/инфламацијских процеса. Gal-3 је присутан у епителним ћелијама у којима има антиапоптотски ефекат. Антиапоптотске ефекте остварује супресијом ERK активације и стимулацијом активности АКТ сигналног пута. Експресија Gal-3 у епителним ћелијама се повећава по излагању штетним агенсима. Новије студије указују на све истакнутију улогу Gal-3 у патогенези хроничних инфламаторних болести. Значајно је истаћи да Gal-3 има и про- и анти- инфламацијске ефекте у зависности од околности инфламације и циљног ткива или ћелије. Апоптоза епителних ћелија билијарних каналића игра значајну улогу у развоју примарног билијарног холангитиса. Како Gal-3 у епителним ћелијама регулише процес апоптозе вероватно је да Gal-3 учествује и у имунопатогенетским механизмима примарног билијарног холангитиса. Према доступним подацима из литературе улога Gal-3 у патогенези примарног билијарног холангитиса до сада још увек није испитана.

## **2.7. Методе истраживања**

**Експерименталне животиње.** Истраживање ће се обавити на мишицама соја C57BL/6 (*wild type*, WT) и Gal-3<sup>-/-</sup> дефицијентним мишицама на C57BL/6 подлози, старим 8 недеља. Gal-3<sup>-/-</sup> дефицијентни мишеви потичу са Универзитета Калифорнија Давис и нама су уступљени љубазношћу D.K. Hsu-а и F.T. Liu-а. Све планиране процедуре одобрила је

Етичка комисија за рад са експерименталним животињама, Факултета медицинских наука Универзитета у Крагујевцу.

### **Индуковање РВС, дијагноза и праћење тока болести.**

Примарни билијарни холангитис ћемо изазвати као што је раније описано (16). Узорци серума ће се прикупљати друге, четврте и 8. недеље после иницијалне имунизације са 2ОА-BSA. У серумима ће се одређивати концентрација антитела на PDC-E2, коришћењем ELISA технике (*Enzyme-Linked Immunosorbent Assay*, ELISA) како је то раније описано (16). Исечци узорака ткива, добијени након жртвовања животиња, ће се након стандардног третмана бојити хематоксилином и еозином (H&E) и у њима микроскопском анализом регистровати перипортна инфламација, инфилтрација билијарних каналића са и без оштећења као и субкапсуларни инфилтрати. Свака од поментих патолошких промена ће бити оцењиване са: 0 = неизмењено; 1 = благе; 2 = умерене; 3 = изражене и 4 = врло изражене. Хистолошки индекс I биће израчунаван као средња вредност свих оцењених промена. Поред тога оцењиваће се и присуство гранулома и фиброзе и то: 0 = нема; 1 = благе; 2 = умерене; 3 = изражене, а хистолошки индекс II ће бити израчунаван на основу тих вредности.

Исечци ће се бојити још и Сиријус црвеном бојом и то тако што ће се након рехидрације третирати 0.1% раствором боје *Sirius Red F3BA* у засићеној пикринској киселини (*Sigma-Aldrich, St. Louis*), у трајању од једног сата. Потом ће се исечци два пута потапати у закишељену воду и три пута у 100% етанол, да би најзад били опрани ксилолом. Процена степена фиброзе у исечцима мишјих јетри, обојених на овај начин, обавиће се коришћењем програма ImageJ (*National Institute of Health, Bethesda, MD*) на 10 видних поља по исечку.

**Мерење цитокина.** Концентрације цитокина ће се мерити употребом мишјег сета за IL-17, IL-13, and IFN- $\gamma$  (*R&D Systems, Minneapolis, MN, USA*) према упутствима произвођача.

**Имунохистохемијске анализе.** Депарафинисани исечци ће се инкубирати са зечјим моноклонским антителима за мишји цитокератин-7 (CK-7) и Gal-3. Везана антитела се визуализују помоћу конјугата специфичног за зечја антитела (*Expose Rb-Specific HRP/DAB Detection IHC Kit; Abcam*) и фотомикрографисањем помоћу дигиталне камере повезане са светлосним микроскопом (*Olympus BX51*).

### **Изоловање инфилтришућих мононуклеарних ћелија јетре и проточна цитометрија.**

Ћелије ће бити издвојене из ткива јетре као што је то раније описано (2). Мононуклеарне ћелије ће бити регистроване помоћу моноклонских антитела (обележених флуоресцентним бојама) и то за: CD4, CD8 $\alpha$ , TCR $\beta$ , F4/80, CD11c, CD19, I-A/I-E, CD86, IL-12, TNF $\alpha$ , IL-17, IFN- $\gamma$  (*BD Biosciences*). За интрацелуларна бојења, ћелије ће претходно бити активисане РМА/јономицином. Обележене ћелије ће бити анализирани помоћу FACSCalibur проточног цитометра (*BD Biosciences*) а анализа обављена коришћењем програма *FlowJo (Tree Star)*.

**Изоловање ВЕСs и детектовање апоптозе.** За изоловање ових ћелија користиће се перфузија јетре у два корака. Након перфузије хепатоцити ће бити селективно уклоњени благим протискивањем кроз инцизију начињену на јетриној капсули. Преостале ћелије ће бити суспендоване у обogaћеном DMEM медијуму. Након десетодневне култивације овако изолованих ћелија оне ће бити изложене јономицину (1  $\mu\text{g/ml}$ ) у трајању од 22 сата. Процент апоптотичних ћелија ће бити одређен проточном цитометријом уз помоћ Annexin V FITC Detection Kit (*BD Pharmingen, San Jose, CA*).

### **Снага студије и величина узорка**

Величина узорка је израчуната на основу података о вредностима хистолошког скорa и

серумске концентрације IL-6, IFN- $\gamma$ , IL-13 и IL-17 и процента дендритских ћелија изолованих из јетре добијених у прелиминарном експерименту. Студијски узорак је израчунат узимајући алфа као 0.05 и снагу студије од 0.8 за Student's t тест (два независна узорка), поредећи групе међу собом (у оба смера), према статистичком програму G\*Power3. На основу претпоставке која захтева највећи узорак, односно очекиване најмање разлике у испитиваним параметрима између експерименталних и контролних група (за проценат дендритских ћелија у јетри), утврђен је број експерименталних животиња према групама и он износи 43 за сваку од група. Овакав студијски узорак претпоставља утврђивање статистички значајне разлике (Student's t тест за два независна узорка или Mann-Whitney тестом) између две групе испитаника, са снагом студије  $\geq 80\%$ . За статистичку обраду добијених резултата ће се користити комерцијални програмски пакет SPSS верзија 18.

#### **Статистичка обрада података**

Добијени резултати ће бити представљени као средње вредности  $\pm$  стандардне девијације (или стандардне грешке). Статистичка значајност ће се одређивати Student-овим t тестом, а по потреби и Mann-Whitney-евим U test. Статистичка значајност ће бити претпостављена за  $p=0.05$ . Све статистичке анализе ће бити обављене употребом програма SPSS 18.0.

### **2.8. Очекивани резултати докторске дисертације**

Очекује се да делеција гена за Gal-3, у експерименталном мишјем моделу PBC, интензивира болест, да појача портну инфламацију и фиброзу. Познато је да су епителне ћелије без Gal-3<sup>-/-</sup> знатно подложније апоптози па се очекује израженија апоптоза билијарних епителних ћелија Gal-3<sup>-/-</sup> мишева након имунизације ксенобиотиком који стимулише имунски посредовано оштећење ових ћелија. Интензивнију апоптозу билијарних епителних ћелија прати интензивније ослобађање аутоантигена што резултира појачаном стимулацијом ћелија које презентују антиген и последичном интензивнијом активацијом аутореактивних лимфоцита и интензивирањем аутоимунског процеса.

Овим испитивањем би истражили нове имунопатогенетске механизме примарног билијарног холангитиса и евентуално указали на нове терапијске мере у лечењу почетних фаза примарног билијарног холангитиса.

### **2.9. Оквирни садржај докторске дисертације**

Користећи Gal-3 дефицијентне мишеве, испитивањем клиничке слике, хистолошком анализом препарата јетре, детекцијом анти-PDC-E2 антитела (IgG, IgM и IgA), одређивањем нивоа цитокина у серуму ELISA методом, имунохистохемијским анализама ткива јетре и специјалним бојењима ткива којима се детектује фиброза, испитаће се утицај Gal-3 на развој експерименталне примарног билијарног холангитиса. Методом проточне цитометрије ће се анализирати утицај Gal-3 на састав инфилтратата јетре, фенотип и цитокински профил мононуклеарних ћелија које инфилтришу јетру. Испитаће се утицај овог молекула на функционални статус дендритских ћелија присутних у јетри пре и после индукције болести. Утврдиће се утицај индукције болести на експресију Gal-3 у епителним ћелијама билијарних каналића и утицај експресије Gal-3 на апоптозу епителних ћелија билијарних каналића.



## **2.10. Предлог ментора**

За ментора ове докторске тезе Комисија предлаже доц. др Марију Миловановић, доцента Факултета медицинских наука Универзитета у Крагујевцу за ужу научну област Микробиологија и имунологија.

## **2.11. Научна област дисертације**

Медицина. Изборно подручје: Имунологија, инфекција и инфламација

## **2.12. Научна област чланова комисије**

1. Проф. др Миодраг Лукић, професор емеритус Универзитета у Крагујевцу, председник
2. Проф. др Данило Војводић, ванредни професор Медицинског факултета ВМА Универзитета одбране у Београду за ужу научну област Клиничка имунологија, члан
3. Доц. др Гордана Радосављевић, доцент Факултета медицинских наука Универзитета у Крагујевцу за ужу научну област Микробиологија и имунологија, члан

## **Закључак и предлог Комисије**

На основу досадашњег научно- истраживачког рада и публикованих радова, кандидат др мед. Александар Арсенијевић, испуњава све услове за одобрење теме и израду докторске дисертације.

Предложена тема је научно оправдана и оригинална, дизајн истраживања прецизно постављен и дефинисан, а научна методологија јасна и прецизна.

Комисија предлаже Наставно-научном већу Факултета медицинских наука у Крагујевцу да прихвати тему докторске дисертације кандидата др мед. Александра Арсенијевића, под називом **"Значај експресије галектина-3 у патогенези примарног билијарног холангитиса код мишева"** и одобри њену израду.

## **ЧЛАНОВИ КОМИСИЈЕ**

1. Проф. др Миодраг Лукић, професор емеритус Универзитета у Крагујевцу, председник
- 

2. Проф. др Данило Војводић, ванредни професор Медицинског факултета ВМА Универзитета одбране у Београду за ужу научну

област Клиничка имунологија, члан

---

3. Доц. др Гордана Радосављевић, доцент Факултета медицинских наука Универзитета у Крагујевцу за ужу научну област Микробиологија и имунологија, члан
- 

У Крагујевцу, 21.12.2015. године