

УНИВЕРЗИТЕТ У КРАГУЈЕВЦУ

МЕДИЦИНСКИ ФАКУЛТЕТ

ИЗБОРНОМ ВЕЋУ

ПРЕДМЕТ: ИЗВЕШТАЈ КОМИСИЈЕ ЗА ОЦЕНУ НАУЧНЕ ЗАСНОВАНОСТИ ТЕМЕ ДОКТОРСКЕ ДИСЕРТАЦИЈЕ

Комисија за оцену научне заснованости теме докторске дисертације кандидата **Мр сци мед др Весне Миличић** формирана на седници Изборног већа Медицинског факултета Универзитета у Крагујевцу од **09. 03. 2010.**, одлуком бр. **01-1652/3-2** у саставу:

1. Проф. др Небојша Арсенијевић, председник
2. Проф. др Владимир Јаковљевић, члан
3. Проф. др Драган Ђурић, члан (Медицински факултет Универзитета у Београду)
4. Проф. др Мирко Росић, члан
5. Проф. др Снежана Живанчевић-Симоновић, члан

разматрала је предлог теме докторске дисертације под називом "**Улога азотног монооксида (NO) у локалној анафилактичкој реакцији изолованог срца миша**". На основу увида у приложу документацију, Комисија подноси Изборном већу следећи

ИЗВЕШТАЈ

I. Биографски подаци

Кандидат **Мр сци мед др Весна Миличић**, испуњава све услове предвиђене Законом о високом образовању (члан 30) и Статутом Медицинског факултета (члан 151) за израду докторске дисертације.

а) Лични подаци

Кандидат **Мр сци мед др Весна Миличић** је рођена 27. јула 1971. год. у Крагујевцу, где је завршила основну школу и Гимназију као носилац дипломе "Вук Караџић". Уписала је Медицински факултет у Крагујевцу 1990/91. године, а дипломирала 1997. са просечном оценом 9.46. У току студирања више пута је награђивана за постигнуте резултате од стране матичног факултета, Универзитета у Крагујевцу, као и Скупштине града Крагујевца. Од 1. марта 1998. до 1. марта 2000. год. била је ангажована на Медицинском факултету у Крагујевцу у својству истраживача сарадника на предмету Дерматовенерологија (радни однос на одређено време). Од 1. јула 2000. год. запослена у Центру за Дерматовенерологију КЦ Крагујевац. Специјалистички испит је положила у септембру 2004. године на Медицинском факултету у Београду са одличном оценом.

Магистарски рад под називом "**Ћелијска имуност код пацијената са atopским дерматитисом**" чији је ментор био **Проф. др Небојша Арсенијевић** одбранила је **26.01.2006. год.** и тиме је стекла звање магистра медицинских наука. У школској 2007/2008. год. уписала је трећу годину академских докторских студија на Медицинском факултету у Крагујевцу на смеру "Имунологија, инфламација и инфекција".

Од 18.02.2008. год. до 22.01.2009. била је ангажована као инструктор практичне наставе на Медицинском факултету у Крагујевцу на предмету Дерматовенерологија. 22.01.2009. изабрана је у звање сарадника у настави за ужу научну област Дерматовенерологија на Медицинском факултету у Крагујевцу.

Поседује знање рада на рачунару и активно се служи енглеским језиком.

Удата је и има двоје деце.

б) СПИСАК ПУБЛИКОВАНИХ РАДОВА Мр сци мед др ВЕСНЕ МИЛИЧИЋ

1. Радови објављени у научним часописима међународног значаја (категорија М20)

1. Ravic-Nikolic A, **Milicic V**, Ristic G, Jovovic-Dagovic B. Pyoderma gangrenosum associated with Sjogren syndrome. Eur J Dermatol 2009; 19 (4): 392-3.

М 22 - 5 бодова

2. Зборници међународних научних скупова (категорија М30)

1. Krstić N, Ristić G, Ravić-Nikolić A, **Miličić V**, Dejanović L, Relić M. Undesired effects caused by long-lasting corticosteroid therapy of pemphigus vulgaris-case report. IV Congress of dermatovenerologists of Macedonia, Ohrid, 2009; Book of abstracts, 71.

М 34 – 0.5 бодова

3. Часописи националног значаја (категорија М50)

1. **Milicic V**, Baskic D, Zdravkovic N and Arsenijevic N. Nitric oxide and IFN- γ plasma levels in patients with atopic dermatitis. Ser J Exp Clin Res 2008; 9(4): 143-148.

М 52 – 1.5 бодова.

2. Ravic-Nikolic A, **Milicic V**, Ristic G, Jovovic-Dagovic B, Krstic N. Herpes zoster in a patient with rheumatoid arthritis and mixed connective tissue disease. Ser J Exp Clin Res 2008, 9 (4): 155-157.

М 52 – 1.5 бодова.

4. Радови објављени у некатегорисаним часописима

1. Ravić-Nikolić A, **Miličić V**, Jovović-Dagović B, Ristić G. Gyrate erythema associated with metastatic tumor of gastrointestinal tract. Dermatol Online J. 2006 Oct 31;12(6):11.

2. Jovović-Dagović B, Ravić-Nikolić A, **Miličić V**, Ristić G. Bilateral nevus of Ota in a light-skinned woman, Dermatology Online Journal 2007 July 31; 13(3):19.

1. Крстић Н, Ристић Г, Равић А, Јововић Б, **Миличић В**, Метиљевић С. Тешка клиничка слика и неповољан исход pemphigus vulgarisa. Медицински часопис 2007; 1: 28-33.

4. Зборници скупова националног значаја (категорија М60)

1. Терзин М, Танасиловић С, Богатић Д, **Миличић В**, Николић ММ. Pemphigoid gestationis – блажа клиничка слика у другој трудноћи. IX Београдски дерматолошки дани, Београд, 2002; Зборник радова, 126.

М 63 – 0.5 бодова.

2. **Миличић В**, Богатић Д, Николић ММ. Pigmentatio maculosa eruptiva idiopathica - не толико ретка колико непрепозната клиничка слика. IX Београдски дерматолошки дани, Београд, 2002;

М 64 – 0.2 бода.

3. Равић-Николић А, **Миличић В**, Јововић-Даговић Б, Ристић Г. Urticaria pigmentosa. XII Београдски дерматолошки дани, Београд, новембар 2006; Зборник резимеа, 47.

М 64- 0,2 бодова.

4. **Миличић В**, Равић-Николић А, Јововић-Даговић Б, Ристић Г. Granuloma annulare disseminatum удружена са хипертиреозом. XII Београдски дерматолошки дани, Београд, новембар 2006; Зборник резимеа, 42.

М 64- 0.2 бода.

5. Ристић Г, **Миличић В**, Јововић-Даговић Б, Равић-Николић А. Necrobiosis lipoidica diabetorum код пацијентиње која болује од diabetes mellitusa tip I, Hashimoto tireoiditis-a i hypothyreosis primaria. XII Београдски дерматолошки дани, Београд, новембар 2006; Зборник резимеа, 45.

М 64- 0.2 бода.

6. Јововић-Даговић Б, Равић-Николић А, Ристић Г, **Миличић В**. Bilateralni nevus Ota. XII Београдски дерматолошки дани, Београд, новембар 2006; Зборник резимеа, 41.

М 64- 0.2 бода.

7. Равић-Николић А, **Миличић В**, Јововић-Даговић Б, Ристић Г. Паранеоплазијска ерупција удружена са метастазама дифузног карцинома гастроинтестиналног тракта. XIII Београдски дерматолошки дани, Београд, новембар 2007; Зборник резимеа, 15.

М 64- 0.2 бода.

8. **Миличић В**, Равић-Николић А, Јововић-Даговић Б, Ристић Г. Кутана лимфоидна хиперплазија. XIII Београдски дерматолошки дани, Београд, новембар 2007; Зборник резимеа, 17.

М 64- 0.2 бода.

9. Ристић Г, **Миличић В**, Јововић-Даговић Б, Равић-Николић А. Фотоалергијска реакција после привремене тетоваже. XIII Београдски дерматолошки дани, Београд, новембар 2007; Зборник резимеа, 14.

М 64- 0.2 бода.

10. Јововић-Даговић Б, Равић-Николић А, Ристић Г, **Миличић В**. Акрални лентиринозни меланом. XIII Београдски дерматолошки дани, Београд, новембар 2007; Зборник резимеа, 17.

М 64- 0.2 бода.

11. **Миличић В**, Баскић Д, Здравковић Н, Равић-Николић А, Арсенијевић Н. Продукција азот монооксида у ћелијским културама мононуклеарних и полиморфонуклеарних леукоцита код пацијента са atopијским дерматитисом. XVIII Конгрес Удружења дерматовенеролога Србије са међународним учешћем. Београд, 04-06.јуни 2009; Зборник резимеа, 21.

М 64- 0.2 бода.

12. Крстић Н, Ристић Г, Равић А, **Миличић В**, Релић М, Јововић Б. Утицај неуростресогених фактора на перзистирање и рецидивирање промена у псориајатичара (анализа двогодишњег материјала). XVIII Конгрес Удружења дерматовенеролога Србије са међународним учешћем. Београд, 04- 06.јуни 2009; Зборник резимеа, 25.

М 64- 0.2 бода.

13. Крстић Н, Ристић Г, Равић А, **Миличић В**, Јововић Б. Дијагностички и терапијски приступ оболелима од уртикарије на нашем материјалу. XVIII Конгрес Удружења дерматовенеролога Србије са међународним учешћем. Београд, 04- 06.јуни 2009; Зборник резимеа, 21.

М 64- 0.2 бода.

14. Крстић Н, Ристић Г, Равић А, **Миличић В**, Јововић Б. Тешке клиничке компликација системске склеродермије. XVIII Конгрес Удружења дерматовенеролога Србије са међународним учешћем. Београд, 04-06.јуни 2009; Зборник резимеа, 37.

М 64- 0.2 бода.

15. Равић-Николић А, **Миличић В**, Јововић-Даговић Б, Ристић Г. Urticaria pigmentosa. Медицински часопис 2009; 43 (1) Суплемент 1: 34.

M 64- 0.2 бода.

16. **Миличић В**, Равић-Николић А, Јововић-Даговић Б, Ристић Г. Granuloma annulare disseminatum. Медицински часопис 2009; 43 (1) Суплемент 1: 35.

M 64- 0.2 бода.

5. Магистарске и докторске тезе (категорија М70)

1. **Миличић В**. Ћелијска имуност код пацијената са atopским дерматитисом. Медицински факултет Крагујевац 2006. Ментор: **Проф др Небојша Арсенијевић**.

M 72 - 3 бода.

Укупан број бодова на основу објављених радова: 14.5

II. Подаци о предложеној теми

Предложена тема је из области истраживања физиологије кардиоваскуларног система, са посебним освртом на улогу азотног монооксида (NO) у локалној анафилактичкој реакцији изолованог срца миша.

a) Предмет рада

Планираним истраживањима у оквиру предложене теме докторске дисертације "**Улога азотног монооксида (NO) у локалној анафилактичкој реакцији изолованог срца миша**" кандидат **Мр сци мед др Весна Миличић** би обухватила 48 мишева, мушког пола, старости 6-8 недеља, просечне телесне масе 18-20 гр, чија би се срца испитивала према модификованој техници изолованог ретроградно перфундованог срца по Langendorff-у, са константним параметром притиска у коронарним крвним судовима, док би коронарни проток био зависна варијабла. Истраживање ће бити подељено у четири (IV) експерименталне групе. Експерименталне групе би биле:

- I - несензибилисани BALB/с мишеви
- II- BALB/с мишеви активно сензибилисани овалбумином
- III- несензибилисани iNOS-/- мишеви
- IV- iNOS-/- мишеви активно сензибилисани овалбумином

Мишеви се активно сензибилишу овалбумином са две интраперитонеалне инјекције (100µg овалбумина и 8mg алуминиум хидроксида) првог и четрнаестог дана. Двадесетосмог дана срце се изолује и перфундује на описани начин. Анафилактичка реакција изолованог срца провоцира се иницирањем овалбумина кроз аортну канилу.

У узорцима коронарног венског ефлуента би се одређивали следећи параметри: индекс липидне пероксидације (мерен као TBARS), супероксид анион радикал (O₂⁻) и водоник пероксид (H₂O₂). У свакој експерименталној групи би било по 12 (дванаест) експерименталних животиња, док би у статистичкој обради података коришћена двофакторска анализа варијансе са поновљеним мерењима, као и Студентов Т-тест за везане узорке. Сва истраживања ће бити спроведена у Лабораторији за експерименталну кардиоваскуларну физиологију Медицинског факултета Универзитета у Крагујевцу.

b) Научни циљ и основне хипотезе рада

Анафилакса је системска алергијска реакција која може довести до поремећаја више органских система, до шока па и до смрти. Узроци су најчешће уједи инсекта, лекови и храна. Клинички се карактерише дифузним еритемом, пруритусом, уртикаријом и/или ангиоедемом, бронхоспазмом, ларингеалним едемом, хиперперисталтиком, хипотензијом и срчаним аритмијама. Овај поремећај је чешћи него што се то мисли, има нагли и неочекивани почетак као и могућност фаталног исхода, терапија је и даље незадовољавајућа а стопа смртности висока. Све ово изискује од истраживача расветљавање свих механизма и чинилаца ове реакције са крајњим циљем успостављања адекватне терапије. Ипак, научни рад у овој области је ограничен потенцијално фаталним механизмима и захтева коришћење експерименталних модела.

Најчешће је анафилактичка реакција посредована имуноглобулином Е (IgE) када долази до стимулације ткивних мастоцита и њиховог циркулишућег пандана-базофила. IgE се везују за Fc рецептор на мастоцитима и базофилима и њиховим премошћавањем долази до активације. Алергеном идукована активација ових ћелија резултира наглим ослобађањем медијатора путем којих се остварују ефекторне функције. Медијатори се деле на преформирани (хистамин, триптаза, химаза, протеоглици) и новосинтетисани у које спадају липидни медијатори (леукотриени, простагландини, фактор активације тромбоцита - PAF од енгл. platelet activating factor) и цитокини. Ослобођени медијатори делују на многе органе доводећи до системске алергијске реакције (повећавају васкуларни пермеабилитет, изазивају вазодилатацију, бронхијалну и висцералну глатко-мишићну контракцију као и локалну инфламацију). Код људи преобладајући органи су плућа и срце са симптомима ларингеалног едема, респираторног и циркулаторног колапса.

Многи радови говоре о битној улози азот монооксида (NO) у анафилакси. Сматра се да је повећана продукција NO разлог хипотензије код септичног и анафилактичног шока. То је поткрепљено резултатима истраживања у којима је утврђена повишена концентрација NO код људи и експерименталних животиња током анафилаксе. Ипак, извор NO није још увек прецизно одређен и у литератури се срећу контрадикторни и неочекивани резултати о улози NO у анафилакси. NO има двојни ефекат током многих патолошких стања што вероватно зависи од његовог извора, концентрације и места дејства. Постоје три различите форме синтетазе NO (NOS) које се разликују по својој активности и ткивној дистрибуцији. Неурална (nNOS-NOS I) и ендотелна NOS (eNOS-NOS III) се конституционално експримирају и регулисане су тако да продукују мале количине NO. Насупрот томе индуцибилна NOS (iNOS-NOS II) се регулише на транскрипционом нивоу и једном идукована путем цитокина или ендотоксина продукује велике количине NO које се сматрају одговорним за кардиоваскуларни колапс код шока. NO продукован као резултат дејства eNOS има протективну улогу током алергијских реакција путем одржавања респираторног и кардиоваскуларног тонууса тако што антагонизује вазоконстрикторно дејство медијатора анафилаксе.

Анафилакса код људи и мишева има доста сличности: обе врсте синтетишу IgE, експримирају Fc рецептор за IgE на мастоцитима и ослобађају PAF и остале медијаторе из мастоцита. Мање разлике као то што макрофаги људи за разлику од макрофага мишева не експримирају IgE рецептор не могу да умање значај истраживања анафилаксе на експерименталним моделима мишева. Cauwels et al су у својој студији користили два модела анафилаксе. У првом моделу су интравенским инјекцијама PAF изазивали анафилаксу што знатно мање одговара ономе што се збива код људи. У другом моделу који знатно ближе одсликава анафилаксу код људи мишеви прво бивају сензибилизирани овалбумином а затим се њиме изазива реакција. Ова студија доноси закључак да PAF идуковани шок у потпуности зависи од NO продукованог путем eNOS. Ови резултати су неочекивани јер сугеришу примарну улогу eNOS а NO продукован дејством ове синтетазе сматрају главним вазодилаторним чиниоцем. Ови подаци су контрадикторни већем броју радова који су показали да се током овалбумином изазване анафилаксе NO синтетише путем iNOS. Ово саопштење је у својим радовима коментарисало више истраживача и сви се слажу у једном: да је то нов, неочекиван концепт који захтева даљи рад и евентуалну потврду.

Sade et al су на моделу анафилаксе код миша показали повећану експресију iNOS mRNA у плућима и срцу у кратком временском интервалу након излагања алергену. Ово повећање је било праћено ослобађањем хистамина и клиничким манифестацијама анафилактичке реакције. Насупрот овоме експресија eNOS се није мењала током експеримента. Закључак ове групе аутора је да се iNOS брзо индукује током анафилактичке реакције и да продукује велике количине NO. Такође они наводе неопходност даљих истраживања са циљем селективне инхибиције iNOS у циљу превенције анафилактичке вазодилатације без инхибиције протективног ефекта eNOS.

Срчана анафилакса која настаје услед системске дисеминације алергена карактерише се функционалним и биохемијским променама на срцу које настају пре свега услед ослобађања проинфламаторних и вазоактивних супстанци из срчаних мастоцита. Срчана анафилакса се може ex vivo проучавати коришћењем срца сензибилизираних експерименталних животиња тако што се анафилактичка реакција индукује администрацијом специфичног антигена. Током година развијено је више модела изолованог срца експерименталних животиња са циљем проучавања анафилактичке реакције која се одвија локално у срцу као циљном органу.

Masini et al су се више година бавили улогом NO у срчаној анафилакси експерименталних животиња. Утврдили су да је код изолованог срца заморца анафилактичка реакција удружена са наглим ослобађањем хистамина и дуготрајним ослобађањем нитрита (NO₂⁻) који је оксидациони продукт NO. Коришћењем NO-донора и инхибитора синтезе NO у својим радовима ова група аутора доноси закључке о протективној улози NO током срчане анафилаксе тако што NO инхибира ослобађање хистамина из срчаних

мастоцита и одржава тонус коронарних крвних судова. Овај ефекат NO остварује путем повећања концентрације cGMP и смањења интрацелуларног Ca^{2+} . Они наводе да за сада нису у могућности да идентификују извор NO путем кога се ово протективно дејство остварује.

ц) Материјал, и методе рада:

Експериментална група је добро одабрана, узорак је коректно формиран, а планирана методологија је савремена и адекватна

ц1) Експерименталне животиње.

Истраживање би обухватило 48 пацова мушког пола, старости 6-8 недеља, просечне телесне масе 18-20 гр према Истраживање ће бити подељено у четири (IV) експерименталне групе са по 12 животиња.

ц2) Методологија.

Након краткотрајне етарске наркозе, срца би се изоловала из грудног коша и постављала на апаратуру за испитивање изолованог срца по Langendorff-у, на којој би се срце перфундовало према модификованој техници изолованог ретроградно перфундованог срца, са константним параметром притиска у коронарним крвним судовима, док би коронарни проток био зависна варијабла. Експерименталне групе би биле:

- I - несензибилисани BALB/c мишеви (контрола 1)
- II- BALB/c мишеви активно сензибилисани овалбумином (контрола 2)
- III- несензибилисани iNOS-/- мишеви
- IV- iNOS-/- мишеви активно сензибилисани овалбумином

Мишеви се активно сензибилишу овалбумином са две интраперитонеалне инјекције (100 μ г овалбумина и 8mg алуминиум хидроксида) првог и четрнаестог дана. Двадесетосмог дана срце се изолује и перфудује на описани начин. Анафилактичка реакција изолованог срца провоцира се иницирањем овалбумина кроз аортну канилу.

У узорцима коронарног венског ерфлеунта би се одређивали следећи параметри: индекс липидне пероксидације (мерен као TBARS), супероксид анион радикал (O_2^-) и водоник пероксид (H_2O_2). У свакој експерименталној групи би било по 12 (дванаест) експерименталних животиња, док би у статистичкој обради података била коришћена двофакторска анализа варијансе са поновљеним мерењима, као и Студентов Т-тест за везане узорке. Сва истраживања би била спроведена у Лабораторији за експерименталну кардиоваскуларну физиологију Медицинског факултета Универзитета у Крагујевцу.

Студија се придржава свих одредаба FELASA-е о опхођењу са експерименталним животињама и одобрена је од стране Етичког комитета Медицинског факултета Универзитета у Крагујевцу.

д) Очекивани резултати

Кандидат у свом истраживању очекује да добије добије одговор на питање да ли NO који се продукује током анафилактичке реакције настаје дејством синтазе iNOS. Такође очекујемо да добије податке о вредностима параметара оксидационог стреса у анафилактичкој реакцији изолованог срца миша. На овај начин кандидат жели да да свој допринос разјашњењу улоге NO у анафилактичкој реакцији.

III Закључак и предлог Комисије

На основу података презентираних у тачкама I и II овог извештаја, Комисија доноси следећи

ЗАКЉУЧАК

1. На основу досадашњег научно-истраживачког рада и публикованих резултата кандидат **Мр сци мед др Весна Миличић** испуњава све услове за добијање теме и израду докторске дисертације.
2. Предложена тема је оригинална и научно оправдана са циљем испитивања кардиоваскуларног система, са посебним освртом на улогу азотног монооксида (NO) у локалној анафилактичкој реакцији изолованог срца миша. У прилог актуелности ове теме говоре контраверзни подаци у литератури о улози NO у овом феномену, посебно са аспекта интеракције са оксидационим стресом.
3. Комисија са задовољством предлаже Изборном већу Медицинског факултета у Крагујевцу да прихвати пријаву теме докторске дисертације кандидата **Мр сци мед др Весна Миличић** под насловом "**Улога азотног монооксида (NO) у локалној анафилактичкој реакцији изолованог срца миша**" и да одобри кандидату израду докторске дисертације.

Предлог ментора

За ментора рада Комисија предлаже Проф. др Владимира Љ. Јаковљевића, ванредног професора Медицинског факултета у Крагујевцу.

У Крагујевцу
16. 04. 2010.

ЧЛАНОВИ КОМИСИЈЕ

Проф. др Небојша Арсенијевић – председник
Ред. проф. Медицинског факултета у Крагујевцу
(Научна област: Микробиологија и имунологија)

Проф. др Владимир Јаковљевић – члан
Ван. проф. Медицинског факултета у Крагујевцу
(Научна област: Физиологија)

Проф. др Драган Ђурић - члан
Ред. проф. Медицинског факултета у Београду
(Научна област: Физиологија)

Проф. др Мирко Росић - члан
Ред. проф. Медицинског факултета у Крагујевцу
(Научна област: Физиологија)

Проф. др Снежана Живанчевић-Симоновић - члан
Ред. проф. Медицинског факултета у Крагујевцу
(Научна област: Патолошка физиологија)
