

УНИВЕРЗИТЕТ У КРАГУЈЕВЦУ
ФАКУЛТЕТ МЕДИЦИНСКИХ НАУКА
НАСТАВНО-НАУЧНОМ ВЕЋУ

1. Одлука Већа за медицинске науке Универзитета у Крагујевцу

На седници Већа за медицинске науке Универзитета у Крагујевцу, одржаној дана 13.04.2016. године, одлуком број IV-03-268/41 формирана је Комисија за оцену и одбрану завршене докторске дисертације кандидата др Немање Јовичића под називом: **„Имунометаболички фенотип мишева са тип 1 и тип 2 имунским одговором у експерименталном моделу гојазности“**, у следећем саставу:

1. **Проф. др Миодраг Лукић**, професор емеритус, Универзитета у Крагујевцу за ужу научну област Микробиологија и имунологија, председник;
2. **Академик проф. Др Небојша Лалић**, редовни професор Медицинског факултета Универзитета у Београду за ужу научну област Интерна медицина, члан;
3. **Проф. др Небојша Арсенијевић**, редовни професор Факултета медицинских наука Универзитета у Крагујевцу за уже научне области Микробиологија и имунологија и Онкологија, члан;
4. **Проф. др Ирена Танасковић**, ванредни професор Факултета медицинских наука Универзитета у Крагујевцу за ужу научну област Хистологија и ембриологија, члан;
5. **Проф. др Дино Тарабар**, ванредни професор Медицинског факултета ВМА Универзитета одбране у Београду за ужу научну област Интерна медицина, члан.

Комисија је прегледала и проучила докторску дисертацију др Немање Јовичића 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 Немање Јовичића под називом „Имунометаболички фенотип мишева са тип 1 и тип 2 имунским одговором у експерименталном моделу гојазности“, урађена под менторством проф. др Наде Пејновић, ванредног професора Факултета медицинских наука у Крагујевцу за ужу научну област Патолошка физиологија, представља оригиналну студију која се бавила испитивањем имунометаболичког фенотипа сојева мишева код којих доминира тип 1 односно тип 2 имунски одговор у експерименталном моделу гојазности. Студија се такође бавила и испитивањем механизма развоја неалкохолне масне болести јетре и значајем IL-33/ST2 сигналног пута на развој овог обољења код мишева код којих доминира тип 2 имунски одговор.

Имунски и метаболички процеси представљају фундаменталне процесе неопходне за преживљавање организма. Имунометаболизам представља подручје великог интересовања бројних базичних и клиничких истраживања подстакнуто епидемијом гојазности. Истраживања су јасно показала да имунски систем има значајну улогу у метаболичким поремећајима. Показан је значај инфламације посредоване ћелијама урођене и стечене имуности у развоју гојазности и метаболичког синдрома. У хуманој популацији и експерименталним животињама јасно је показано да осетљивост на велики број болести може зависити од имуногенетских фактора који поред осталог одређују и преовлађујући тип имунског одговора. Тако особе са доминантним M1/Th1 имунским одговором имају снажан целуларни имунски одговор, док особе са доминантним M2/Th2 имунским одговором чешће развијају алергијске реакције.

Гојазност је једно од најраспрострањенијих хроничних обољења савременог друштва које карактерише прекомерно и ектопично акумулација масног ткива у организму и које представља главни фактор ризика за развој метаболичких поремећаја укључујући инсулинску резистенцију, тип 2 дијабетес, неалкохолну масну болест јетре, атеросклерозу. Гојазност карактерише постојање инфламације у увећаном висцералном адипозном ткиву и хронична системска инфламација ниског степена, означена као метаболичка инфламација (метафламација). У физиолошким условима у масном ткиву доминира антиинфламаторни M2/Th2 тип имунског одговора, док у гојазном масном ткиву

доминира проинфламаторни M1/Th1 имунски одговор. Адипозно масно ткиво у основи представља депо триглицерида из којих се, у случају потребе организма, процесом липолизе у циркулацију ослобађају слободне масне киселине, које се затим допремају до ћелија и ткива који их користе као извор енергије. Сматра се да управо продукти липолизе, односно слободне масне киселине, имају кључну улогу код метаболичких поремећаја повезаних са гојазношћу, као што је инсулинска резистенција. Инсулинска резистенција, дефинисана као смањена способност ткива да развије биолошки одговор на инсулин је кључни поремећај у оквиру метаболичког синдрома и сматра се основним прогностичким фактором у настанку тип 2 *Diabetes mellitus*-а. Инфламација адипозног ткива узрокована гојазношћу, коју карактерише инфилтрација великог броја M1 макрофага, представља процес одговоран за активацију проинфламаторних сигналних путева и синтезу проинфламаторних цитокина TNF- α , IL-6 и IL-1 β , који ометају сигналне путеве инсулина и индукују инсулинску резистенцију.

Неалкохолна масна болест јетре, водећи узрок хроничне болести јетре у развијеним земљама, подразумева широк опсег поремећаја које у основи карактерише повећана акумулација липида унутар ћелија јетре. Ови поремећаји се крећу у распону од бенигне стеатозе јетре до неалкохолног стеатохепатитиса, цирозе и хепатоцелуларног карцинома. Неалкохолна масна болест јетре представља једну од манифестација метаболичког синдрома и сматра се хепатичком манифестацијом овог синдрома. Почетни стадијум болести представља једноставна стеатоза јетре, која је најчешће бенигни поремећај, али масно измењени хепатоцити постају осетљиви на настанак оштећења што за последицу може имати развој запаљенске реакције, инфилтрацију паренхима јетре имунским ћелијама и развој неалкохолног стеатохепатитиса. Неалкохолни стеатохепатитис карактерише присуство некроинфламаторне компоненте и последични знаци репарације ткива односно фиброзе јетре. Присуство знакова фиброзе у великој мери позитивно корелира са прогресијом болести и настанком компликација. У процесу репарације ткива јетре односно фиброгенезе, кључне ћелије које синтетишу и депонују компоненте екстрацелуларног матрикса су активирани хепатичне стелатне ћелије. Цитокини који активирају стелатне ћелије регулишу инфламаторни одговор на оштећење и међу њима су IL-1 β , IL-6, TNF- α , IL-13 и TGF- β , а процес фиброгенезе у јетри је регулисан и преко IL-33.

IL-33 припада IL-1 породици цитокина и може имати улогу нуклеарног фактора и „алармина“ који се ослобађа из ћелије у току некрозе. Након ослобађања из ћелије, IL-33 остварује своје функције везујући се за специфични рецептор који је по структури хетеродимер који чине ST2 молекула и IL-1R помоћни протеин (IL-1RacP). Сматра се да IL-33 има протективни ефекат на развој гојазности и инфламацију адипозног ткива који остварује стимулацијом повећане продукције Th2 цитокина и поларизацијом макрофага из M1 у M2 смеру. У јетри, IL-33 се ослобађа у одговору на хронични хепатоцелуларни

стрес и тако ослобођен екстрацелуларни IL-33 преко ST2 сигналног пута изазива акумулацију и активацију ILC2 популације ћелија које затим продукују IL-13 и иницирају активацију хепатичних стелатних ћелија и њихову трансформацију у миофибробласте. Иако је профибротска улога IL-33 у обољењима јетре недвосмислено потврђена, и механизми његовог дејства делимично описани, његова улога у обољењима јетре који прате развој гојазности још увек није у потпуности расветљена.

Ова студија показује значајне разлике у имунометаболичком фенотипу мишева са доминантним тип 1 и тип 2 одговором. Већи пораст телесне тежине, већа количина масног ткива, виша гликемија, инфламација и фиброза јетре у C57Bl/6 мишева је повезана са већом заступљеношћу Th1 ћелија у масном ткиву, проинфламаторних ћелија природне имуности, проинфламаторних и профиброгенних цитокина у јетри. Постоји изражена дисоцијација стеатозе и фиброзе јетре у C57Bl/6 и BALB/c мишева, где Th2 доминантан сој има изражену стеатозу јетре праћену повећаном експресијом гена који учествују у метаболизму масти, док Th1 сој има изражену фиброзу јетре, посебно изражену на исхрани богатој мастима. Анализа улоге IL-33/ST2 сигналног пута показује да ова сигнална осовина има многоструке улоге у метаболичким поремећајима изазваним гојазношћу. IL-33/ST2 сигнални пут смањује количину висцералног масног ткива и инфламацију у висцералном масном ткиву, али промовише развој стеатозе јетре, инфламације и фиброзе, највероватније модулацијом регрутације ћелија и метаболичких путева који повезују висцерално адипозно ткиво и ткиво јетре у току развоја гојазности.

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

Претрагом литературе прикупљене детаљним и систематским претраживањем биомедицинских база података "Medline" и "CoBSON" помоћу следећих кључних речи: имунометаболизам, сојне разлике, неалкохолни стеатохепатитис, гојазност, фиброза јетре, дијета са високим садржајем масти, интерлеукин-33, ST2 (immunometabolism, strain differences, NASH, obesity, hepatic fibrosis, HFD, IL-33, ST2) нису пронађене студије сличног дизајна и методолошког приступа. На основу тога, Комисија констатује да докторска дисертација кандидата др Немање Јовичића под називом: „Имунометаболички фенотип мишева са тип 1 и тип 2 имунским одговором у експерименталном моделу гојазности“, представља резултат оригиналног научног рада.

2.3. Преглед остварених резултата рада кандидата у одређеној научној области

А. Лични подаци

Кандидат асистент др Немања Јовичић рођен је 4. 4. 1981. године у Новом Саду. Медицински факултет Универзитета у Крагујевцу уписао је 2000. године, а дипломирао априла 2010. године са просечном оценом 8,71.

Др Немања Јовичић, сарадник у звању асистента на Катедри за хистологију и ембриологију, запослен је на Факултету медицинских наука у Крагујевцу од 2011. године. Учесник је међународног SCOPES пројекта као и јуниор пројекта Факултета медицинских наука Универзитета у Крагујевцу. Др Немања Јовичић је члан Друштва имунолога Србије и Европског удружења за истраживање јетре.

Аутор је и коаутор 3 рада у часописима од међународног значаја и 5 радова у часописима националног значаја. На пољу свог континуираног стручног усавршавања др Немања Јовичић је био активни учесник на бројним међународним конгресима и конференцијама посвећеним тематици у области имунологије и патологије јетре.

Од школске 2010/2011. године др Немања Јовичић је студент Докторских академских студија – изборно подручје Молекулска медицина: имунологија, инфекција, инфламација, Факултета медицинских наука Универзитета у Крагујевцу. Усмени докторски испит положио је 17.7.2013. године са оценом 9.

Тема докторске дисертације под називом, „Имунометаболички фенотип мишева са тип 1 и тип 2 имунским одговором у експерименталном моделу гојазности“, прихваћена је 2015. године на Факултету медицинских наука Универзитета у Крагујевцу.

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

Кандидат др Немања Јовичић остварио је 27 бодова по основу радова објављених у целини у међународним или домаћим часописима, бодованих према члану 177. Статута факултета:

1. **Jovicic N**, Jeftic I, Jovanovic I, Radosavljevic G, Arsenijevic N, Lukic LM, Pejnovic N. Differential Immunometabolic Phenotype in Th1 and Th2 Dominant Mouse Strains in Response to High-Fat Feeding. Plos One 2015; 10(7):e0134089 **M21=8 бодова**
2. Jeftic I*, **Jovicic N***, Pantic J, Arsenijevic N, Lukic ML, Pejnovic N. Galectin-3 Ablation Enhances Liver Steatosis, but Attenuates Inflammation and IL-33 Dependent Fibrosis in Obesogenic Mouse Model of Nonalcoholic Steatohepatitis. Mol Med 2015; 21:453-465 (* први аутори - contributed equally) **M21=8 бодова**

3. Velickovic M, Pejnovic N, Mitrovic S, Radosavljevic G, Jovanovic I, Kanjevac T, **Jovicic N**, Lukic A. ST2 Deletion Increases Inflammatory Bone Destruction in Experimentally Induced Periapical Lesions in Mice. J Endod. 2015; 41(3): 369-75 ; **M21=8 бодова**
4. **Jovicic N**, Jeftic I, Miletic Kovacevic M, Tanaskovic I, Arsenijevic N, Lukic L M, Pejnovic N. ST2 Deficiency Ameliorates High Fat Diet-Induced Liver Steatosis in BALB/c Mice. Serb J Exp Clin Res 2015; 16:9-20 ; **M52=1,5 бодова**

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

Наслов докторске дисертације и урађеног истраживања се подударају. Одобрени циљеви истраживања су у складу са постављеним циљевима у раду. Примењена методологија истраживања је идентична са одобреном.

Докторска дисертација др Немање Јовичића написана је на 174 стране и садржи следећа поглавља: увод, циљеве истраживања, материјал и методе, резултате, дискусију, закључак и литературу. Рад садржи 7 схема, 5 табела и 50 фигура. Поглавље литература садржи 227 цитираних библиографских јединица из домаћих и иностраних стручних публикација.

У уводном делу кандидат је јасно и сажето, користећи најсавременије литературне податке, изложио садашњи ниво сазнања о испитиваној теми и значају изабране теме за медицинску науку. Кандидат је јасно изложио непознанице о теми и повезао их са темом свог рада. Циљеви и конкретни задаци су јасно изложени при чему је основни циљ испитивање разлика у метаболичким поремећајима код мишева са доминантним тип 1 и тип 2 имунским одговором као и испитивање улоге интерлеукина 33 у имунометаболичким поремећајима, са посебним освртом на неалкохолну масну болест јетре.

Материјал и методологија рада су истоветни са наведеним у пријави дисертације. Методологија рада је презентована веома прецизно и на одговарајући начин. Све технике коришћене у студији су детаљно описане.

Резултати истраживања су систематично приказани и добро документовани са 1 табелом и 50 фигура. Показано је да постоје значајне разлике у имунометаболичком фенотипу мишева са доминантним тип 1 и тип 2 имунским одговором. Показано је да су већи пораст телесне тежине као и количина масног ткива, виша гликемија, инфламација и фиброза јетре код мишева са доминантним тип 1 имунским одговором, повезани са већом заступљеношћу Th1 лимфоцита у масном ткиву, проинфламаторних ћелија природне имуности, проинфламаторних и профиброгених цитокина у јетри. Такође је описана значајна дисоцијација стеатозе и фиброзе јетре у два различита соја мишева при чему тип 2 доминантан сој има изражену стеатозу јетре праћену повећаном експресијом гена који

учествују у метаболизму масти, док је тип 1 доминантни сој имао изражену инфламацију и фиброзу јетре. Показано је и да IL-33/ST2 сигнална осовина има многоструке улоге у метаболичким поремећајима изазваним гојазношћу. Установљено је да IL-33/ST2 сигнални пут смањује количину и инфламацију висцералног масног ткива, али промовише развој стеатозе јетре, инфламације и фиброзе.

У поглављу Дискусија добијени резултати су анализирани и поређени са литературним подацима из ове области. Коментари добијених резултата су језгровити, а начин приказивања података чини их прегледним и разумљивим. Добијени резултати су дискутовани у контексту сличних, различитих па и конфликтних података о развоју гојазности и метаболичких поремећаја код различитих сојева мишева. Том приликом су наведени ставови и сазнања из најзначајнијих оригиналних и ревијских научних радова поменуто области.

Коришћена литература је адекватна по обиму, садржају и релевантности. Цитирано је 227 библиографских јединица из домаћих и иностраних стручних публикација.

2.5. Научни резултати докторске дисертације

Најзначајнији резултати истраживања садржани су у следећим закључцима:

1. Постоје значајне разлике у имунометаболичком фентипу мишева са доминантним тип 1 и тип 2 имунским одговором. C57Bl/6 мишеви са доминантним Th1 имунским одговором на исхрани са високим садржајем масти у поређењу са BALB/c мишевима са доминантним Th2 имунским одговором на истом режиму исхране су развили:
 - 1.1. Већу гојазност, већи пораст телесне тежине и већу количину висцералног масног ткива;
 - 1.2. Значајно веће вредности гликемије наше и значајно ниже концентрације инсулина у серуму;
 - 1.3. Изражену инфламација у висцералном адипозном ткиву која је посредована је M1/Th1 ћелијама;
2. Постоји изражена дисоцијација стеатозе и фиброзе јетре у C57Bl/6 и BALB/c мишева, где Th2 доминантан сој има изражену стеатозу јетре праћену повећаном експресијом гена који учествују у метаболизму масти, док Th1 сој има изражену фиброзу јетре, посебно изражену на исхрани богатој мастима. Израженију стеатозу јетре прати повећана експресија гена за LXR α и PPAR γ у јетри BALB/c мишева на исхрани са високим садржајем масти у поређењу са C57Bl/6 мишевима на истом режиму исхране. BALB/c мишеви без обзира на старост и на тип исхране имају значајно веће серумске концентрације укупног холестерола и триглицерида у поређењу са C57Bl/6 мишевима.
3. Неалкохолни стеатохепатитис је израженији код C57Bl/6 мишева на исхрани са високим садржајем масти у односу на BALB/c мишеве и имунске ћелије Th1 имунског

одговора посредују у инфламацији јетре која је знатно израженија код C57Bl/6 мишева на исхрани са високим садржајем масти у поређењу са BALB/c мишевима.

4. C57Bl/6 мишеви развијају значајно израженију фиброзу јетре у односу на BALB/c мишеве. Израженију фиброзу јетре C57Bl/6 мишева на исхрани са високим садржајем масти прати повећана хепатична експресија гена који кодирају профиброгене молекуле, проколаген и TGF- β .
5. Серумске концентрације IL-6, IL-13 и TGF- β су значајно веће код C57Bl/6 мишева на исхрани са високим садржајем масти у поређењу са BALB/c мишевима. Концентрације проинфламаторних IL-6, TNF- α и IFN- γ , као и профиброгенних IL-33, IL-13 и TGF- β су знатно веће у хомогенату ткива јетре C57Bl/6 мишева на исхрани са високим садржајем масти у поређењу са BALB/c мишевима.
6. IL-33/ST2 сигнални пут има значајну улогу у метаболичким поремећајима изазваним гојазношћу. IL-33/ST2 сигнални пут има протективну улогу у развоју гојазности и повећања висцералног масног ткива и развоју метаболичке инфламације у висцералном масном ткиву
7. IL-33/ST2 сигнални пут има утицај на механизме гликорегулације у мишјем моделу гојазности индуковане исхраном са високим садржајем масти и фруктозе. Делеција ST2 је удружена за значајно нижим вредностима гликемије наше код мишева на исхрани са високим садржајем масти.
8. IL-33/ST2 сигнални пут има протективну улогу у развоју метаболичке инфламације у висцералном масном ткиву.
9. IL-33/ST2 сигнални пут промовише развој стеатозе јетре у мишјем моделу гојазности индуковане исхраном са високим садржајем масти и фруктозе. Израженију стеатозу јетре прати повећана експресија гена за LXR α , CD36 и PPAR γ у јетри WT BALB/c мишева на исхрани са високим садржајем масти у поређењу са ST2^{-/-}BALB/c мишевима на истом режиму исхране.
10. IL-33/ST2 сигнални пут промовише развој инфламације јетре у мишјем моделу гојазности индуковане исхраном са високим садржајем масти и фруктозе.
11. IL-33/ST2 сигнални пут промовише развој фиброзе јетре у мишјем моделу гојазности индуковане исхраном са високим садржајем масти и фруктозе при чему је повећана експресија гена у јетри који кодирају проколаген, IL-33 и IL-13. Присуство IL-33 је неопходно за развој фиброзе јетре и значајно поспешује фиброзу у јетри мишева са доминантним тип 2 имунским одговором.
12. IL-33/ST2 сигнални пут промовише присуство проинфламаторних ћелија природне и стечене имуности у јетри у мишјем моделу гојазности индуковане исхраном са високим садржајем масти и фруктозе.

2.6. Примењивост и корисност резултата у теорији и пракси

Ово истраживање је по први пут детаљно изнело приказ значајних имунометаболичких разлика које су условљене доминантним, генетским одређеним типом имунског одговора. Доминантан тип 1 имунског одговора је удружен са израженијом инфламацијом метаболичких ткива у току настанак гојазности. Показана је изражена дисоцијација хепатичких манифестација метаболичких поремећаја при чему је тип 1 имунског одговора био удружен са израженом фиброзом јетре док је тип 2 имунског одговора био удружен са повећаном експресијом гена за LXR α и PPAR γ у јетри и израженом стеатозом. Поготово је значајан резултат испитивања значаја IL-33/ST2 сигналне осовине на развој метаболичких поремећаја у току гојазности. IL-33/ST2 сигнални пут има протективну улогу у развоју метаболичке инфламације у висцералном масном ткиву али истовремено промовише развој стеатозе јетре коју прати повећана експресија гена за LXR α , CD36 и PPAR γ у јетри и инфламације. IL-33/ST2 сигнална осовина има профиброгено дејство у јетри у мишијем моделу гојазности индуковане исхраном са високим садржајем масти и фруктозе. Ови резултати указују на могућу нову стратегију у испитивању третмана неалкохолне масне болести јетре и стеатохепатитиса.

2.7. Начин презентирања резултата научној јавности

Резултати ове докторске дисертације објављени су у два оригинална научна рада, у међународном и националном часопису. Резултати су такође представљени у форми презентација и оралног излагања на више значајних међународних конференција из области имунологије и хепатологије.

ЗАКЉУЧАК

Комисија за оцену и одбрану завршене докторске дисертације кандидата др Немање Јовичића под називом „Имунометаболички фенотип мишева са тип 1 и тип 2 имунским одговором у експерименталном моделу гојазности“, на основу свега наведеног сматра да је истраживање у оквиру дисертације засновано на савременим научним сазнањима и да је адекватно постављено и спроведено.

Комисија сматра да докторска дисертација кандидата др Немање Јовичића урађена под менторством проф. Др Наде Пејовић, представља оригинални научни рад и има велики научни и практични значај у разумевању повезаности имунских процеса и метаболичких поремећаја.

На основу свега изложеног Комисија предлаже Наставно-научном већу Факултета медицинских наука Универзитета у Крагујевцу, да докторска дисертација под називом „Имунометаболички фенотип мишева са тип 1 и тип 2 имунским одговором у експерименталном моделу гојазности“, кандидата др Немање Јовичића буде позитивно оцењена и одобрена за јавну одбрану.

ЧЛАНОВИ КОМИСИЈЕ

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

Академик проф. Др Небојша Лалић, редовни професор Медицинског факултета Универзитета у Београду за ужу научну област Интерна медицина, члан

Проф. др Небојша Арсенијевић, редовни професор Факултета медицинских наука Универзитета у Крагујевцу за уже научне области Микробиологија и имунологија и Онкологија, члан

Проф.др Ирена Танасковић, ванредни професор Факултета медицинских наука Универзитета у Крагујевцу за ужу научну област Хистологија и ембриологија, члан

Проф. др Дино Тарабар, ванредни професор Медицинског факултета ВМА Универзитета одбране у Београду за ужу научну област Интерна медицина, члан
