

Одлуком Наставно-научног вијећа Медицинског факултета у Фочи, Универзитета у Источном Сарајеву, број 01-3- од 27.05.2022. године, именована је Комисија за оцјену и одбрану урађене докторске дисертације кандидата Оливере Љубоје под насловом " Процјена поремећаја функције неутрофилних гранулоцита код дјеце са цистичном фиброзом“

(у даљем тексту: Комисија)¹ у сљедећем саставу:

1. Доц. др Душан Михајловић, ужа научна област Биохемија, Медицински факултет у Фочи, предсједник Комисије;
2. Академик Миодраг Чолић, ужа научна област Имунологија, Медицински факултет у Фочи, члан Комисије;
3. Проф.др Предраг Минић, ужа научна област Педијатрија, Медицински факултет Универзитета у Београду, члан Комисије.
4. Проф.др Јелица Предојевић Самарџић, ужа научна област Педијатрија, Медицински факултет у Бања Луци, члан Комисије
5. Проф.др Гордана Букара Радујковић, ужа научна област Педијатрија, Медицински факултет у Бања Луци, члан Комисије.

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

ИЗВЈЕШТАЈ **о оцјени урађене докторске дисертације**

1. Значај и допринос докторске дисертације са становишта актуелног стања у одређеној научној области

У урађеној докторској дисертацији су испитиване функције неутрофилних гранулоцита периферне крви дјеце обољеле од цистичне фиброзе (ЦФ) *in vitro*. Такође, описане су епидемиолошке и клиничке карактеристике обољеле дјеце и испитана повезаност тих карактеристика са функцијама неутрофилних гранулоцита. У досадашњим студијама су углавном истраживани и описани поремећаји у инфламаторним ћелијама бронхоалвеоларног лавата, док су литературни подаци о промјенама у функцији неутрофилних гранулоцита периферне крви код дјеце веома оскудни. Стога, ова докторска дисертација је обрађивала теме које су са научног

¹Комисија има најмање три члана од којих најмање један није у радном односу на Универзиету

аспекта и научну заједницу веома значајне и изразито актуелне.

Инфламација посредована неутрофилним гранулоцитима игра значајну улогу у патофизиологији плућне болести код ЦФ и њеној даљој прогресији. Још увијек није сасвим јасно да ли се ове ћелије мењају када дођу у плућа на мјесто инфламације или су примарно измјењене као директна посљедица генетичког поремећаја. Управо то чини ово подручје веома интересантним и значајним за истраживања. Осим тога, не постоји ни ефикасна анти-инфламаторна терапија. Ниједна досадашња терапија није успјела да санира хроничну инфламацију у плућима код ЦФ. Стога су неопходне нове терапијске опције које би циљано дијеловале на ћелијске механизме инфламације, посебно на неутрофилне гранулоците. Резултати ове докторске дисертације би могли користити за додатно проучавање гранулоцита периферне крви код ЦФ пацијената у циљу бољег разумијевања њихових функција и развоја антиупалних терапија, сложеног инфламаторног одговора, какав је код ЦФ.

2. Оцјену да је урађена докторска дисертација резултат оригиналног научног рада кандидата у одговарајућој научној области

Резултати овога рада су производ оригиналних експерименталних истраживања. Испитиване су функције неутрофилних гранулоцита периферне крви дјете оболеле од ЦФ: степен апоптозе, продукција реактивних врста кисеоника (РОС), интензитет нетозе и фагоцитозе, бактерицидна активност неутрофилних екстраћелијских замки, и продукција неутрофилне еластазе (НЕ). С обзиром да слично истраживање према доступним литературним подацима код дјете са ЦФ до сада није рађено, ова докторска дисертација представља оригинални научни допринос кандидаткиње.

3. Преглед остварених резултата рада кандидата у одређеној научној области

Др. Оливера Љубоја је рођена 1973. год. у Бањалуци, где је завршила основну и средњу школу. Студије је завршила на Медицинском факултету у Бањалуци, 2000 год. Од фебруара 2001. године примљена је у радни однос на мјесто љекара опште праксе у Дому здравља Бањалука, а од јануара 2002. године запослена је на Клиници за дјечије болести Универзитетског клиничког центра Републике Српске гдје и данас ради. Специјалистички испит из педијатрије положила је у мају 2008. године. Предмет највећег интересовања јој је у току специјализације била област из дјечије пулмологије. Ужу специјализацију из дјечије пулмологије завршила је на Медицинском факултету Универзитета у Београду у јуну 2015. године. Током обављања субспецијалистичког стажа стекла је знање и вјештину за извођење

флексибилне фибробронхоскопије код дјече. Посебна сфера интересовања у дјечијој пулмологији су обољели од цистичне фиброзе. Члан је Европског удружења за цистичну фиброзу, (European Cystic Fibrosis Society), као и члан Комисије за ријетке болести која дјелује при Центру за ријетке болести Републике Српске. Од фебруара 2016. године била је укључена у велики Европски истраживачки пројекат о доступности бронхоскопије у дјече, који је покренут у оквиру Европског респираторног удружења (European Respiratory Society, ERS). Посредством ERS стекла је лиценцу о завршеној школи спирометрије. Дана 20.09.2016. године магистрирала је на Медицинском факултету Универзитета у Бањој Луци на тему „Улога високо сензитивног Ц- реактивног протеина као неспецифичног биомаркера упале код дјече са астмом,, Запослена је на мјесту вишег асистента на Медицинском факултету у Бањој Луци. Учествовала је на европским и свјетским конгресима из педијатрије. Аутор и коаутор је у више радова објављених у часописима и зборницима радова у земљи и иностранству.

4. Оцјену о испуњености обима и квалитета у односу на пријављену тему (по поглављима)²

Увод

У поглављу увод дат је приказ досадашњих сазнања из лературе која су непосредно везана за предмет докторске дисертације. Кандидаткиња је у уводу детаљно изњела познате чињенице везане за клиничку слику ЦФ и познате патофизиолошке механизме развоја болести са посебним освртом на улогу неутрофилних гранулоцита. Детаљно су изњете и познате чињенице везане за улогу трансмембранског регулатора проводљивости за јоне хлора (CFTR, eng.“Cystic Fibrosis Transmembrane Regulator“), као и познате физиолошке функционалне карактеристике неутрофила. Научни проблем истраживања, да улога неутрофила периферне крви у активацији имунског одговора у ЦФ није довољно позната, те њихову повезаност са хроничном инфламацијом и инфекцијом у плућима, јасно је назначена.

Циљеви

Циљеви истраживања су јасно постављени и усаглашени су са хипотезама

²Испуњеност обима и квалитета у односу на пријављену тему, нарочито, треба да садржи: аналитички и системски прилаз у оцјењивању истраживачког постављеног предмета, циља и задатака у истраживању;испуњеност научног прилазу доказивања тврдњи или претпоставки у хипотезама, са обрадом података

истраживања. У докторској дисертацији су испитивани следећи циљеви:

1. Анализирати епидемиолошке и клиничке карактеристике испитаника са ЦФ са различитим мутацијама
2. Испитати и упоредити степен спонтане и индуковане апоптозе неутрофилних гранулоцита периферне крви у култури код испитаника са ЦФ и здравих контрола
3. Испитати и упоредити продукцију реактивних кисеоничних врста гранулоцита периферне крви (нестимулисаних и стимулисаних фобол-12-миристан-13-ацетатом (РМА), опсонизованим зимозаном (OpZy), липополисахаридом (LPS) у комбинацији са Н-формил-метионил-леуцил-фенилаланином (fMLP), инактивисаним опсонизованим бактеријама врсте *Ps. Aeruginosa* или калцијум-јонофором (CaI)) код дјече обољеле од ЦФ и здраве дјече.
4. Испитати и упоредити интензитет нетозе гранулоцита периферне крви (нестимулисаних и стимулисаних са РМА, инактивисаним опсонизованим бактеријама врсте *Ps. Aeruginosa* или CaI) код дјече обољеле од ЦФ и здраве дјече.
5. Испитати и упоредити и бактерицидну активност неутрофилних екстраћелијских замки и фагоцитну способност гранулоцита периферне крви испитаника обољелих од ЦФ и здравих испитаника
6. Испитати и упоредити продукцију неутрофилне еластазе гранулоцита периферне крви (нестимулисаних и стимулисаних РМА, OpZy, LPS у комбинацији са fMLP, инактивисаним опсонизованим бактеријама врсте *Ps. Aeruginosa* или CaI) код дјече обољеле од ЦФ и здраве дјече.
7. Испитати да ли постоји повезаност између појединих функција гранулоцита периферне крви и клиничких параметара дјече обољеле од ЦФ.

Сви постављени циљеви су адекватно реализовани

Материјал и методе

У докторској дисертацији је детаљно описан научни метод истраживања. Јасно су дефинисани критеријуми за укључење и искључење из студије и начини клиничке процјене дјече са ЦФ. Што се експерименталног дјела студије тиче, детаљно је описан процес изолације гранулоцита периферне крви, коришћени стимулуси, начин одређивања степена апоптозе, продукције реактивних врста кисоника (РОС), интензитета фагоцитозе и нетозе, процјена бактерицидне активности нетова, те концентрације НЕ уз корелацију са клиничким карактеристикама. У поглављу

материјал и методе прецизно су дефинисане статистичке методе за обраду података.

Резултати

Резултати су јасно описани и приказани у виду графикана и табела, правилно обрађени примјеном адекватних статистичких метода. Показано је да гранулоцити периферне крви дјеце са ЦФ, прије и након стимулације, у мањем степену подлежу апоптози, имају смањену продукцију реактивних врста кисоника, који су у негативној корелацији са степеном фагоцитозе. Интезитет нетозе је у директној корелацији са тежином плућне болести. Први пут је овако детаљно испитана функција неутрофилних гранулоцита периферне крви код дјеце обољеле од ЦФ.

Дискусија

У поглављу дискусија кандидаткиња је детаљно и стручно анализирао и упоредио добијене резултате са свим до сада спроведеним студијама на ову тему. Резултати који се односе на апоптозу, фагоцитозу, оксидативни прасак, нетозу, бактерицидну активност нетова и НЕ су објашњени систематично, редослиједом којим се појављују у поглављу резултати уз коришћење релевантних литературних података. Такође, у овом поглављу је дат и осврт на постојање повезаности између појединих функција гранулоцита периферне крви и клиничких параметара дјеце обољеле од ЦФ.

Закључак

У овом поглављу су јасно и таксативно наведени најважнији закључци докторске дисертација:

1. Епидемиолошке карактеристике дјеце са ЦФ укључених у ову студију су сличне епидемиолошким карактеристикама ЦФ описаних у другим студијама
2. Постоји позитивна, статистички значајна корелација између FEV1 и FVC са ВМ1 и дијабетес мелитусом код дјеце са ЦФ.
3. Хронична колонизација дисајног пута са *Ps. aeruginosa*, као и ранија доб стицања колонизације, значајно доприносе паду плућних функција.
4. Интензитет апоптозе нутрофила периферне крви код испитаника са ЦФ је статистички значајно мањи у односу на здраве контроле.
5. Стимулација неутрофила са РМА и ОпZум доводи до статистички мањег интензитета РОС код испитаника са ЦФ у односу на здраве контроле.
6. Процјеном интензитета нетозе неутрофила периферне крви нису добијене статистички значајне разлике између испитаника са ЦФ у односу на здраве контроле, као ни при испитивању интензитета фагоцитозе и бактерицидне активности нетова.

7. Концентрација НЕ у супернатантима неутрофила периферне крви испитаника са ЦФ је била статистички значајно мања у односу на здраве контроле у нестимулисаним условима и при стимулацији са fMLP/LPS.

8. Интензитет нетозе неутрофила периферне крви при стимулацији са *Ps.aeruginosom* је статистички значајно већи код испитаника са ЦФ са тешким степеном плућне болести у односу на пацијенте са бољим плућним функцијама, а што је у складу са негативном корелацијом добијеном између интензитета нетозе при стимулацији *Ps. aeruginosom* и измјереним FEV1 код испитаника са ЦФ.

9. Утврђено је постојање негативне корелације између продукције реактивних кисеоничких врста и степена фагоцитозе неутрофила периферне крви код испитаника са ЦФ при коришћењу стимулуса PMA, fMLP, Cal i OpZym.

10. Примјена снажних индуктора НЕТозе условљава негативне корелације између интензитета нетозе и фагоцитозе неутрофила периферне крви код испитаника са ЦФ.

Литература

У раду је цитирано 239 библиографских јединица из ове области, који су правилно наведени у тексту и поглављу Литература.

На основу наведеног, докторска теза је по квалитету, обиму и сложености испунила циљеве и задатке постављене у пријави тезе.

5. Научне резултате докторске дисертације

Овим истраживањем су добијени изузетно значајни резултати. Први пут су описане поједине функције неутрофилних гранулоцита периферне крви код дјече са ЦФ. Смањен интензитет апоптозе нестимулисаних и неутрофила стимулираних различитим стимулусима, као и смањена продукција реактивних врста кисоника (РОС) у односу на здраве испитанике су значајни резултати са аспекта одбране домаћина од инфекције и могли би бити један од фактора који доприноси хроничној инфламацији у дисајним путевима пацијената оболелих од ЦФ.

Интензитет нетозе изазвене *Ps. aeruginosa* неутрофила периферне крви обољелих од ЦФ са тешким степеном плућне болести је био значајно већи у односу на обољеле са бољом плућном функцијом. Овај резултат је био у складу са негативном корелацијом добијеном између интензитета нетозе при стимулацији *Ps. Aeruginosom* и FEV1 код испитаника са ЦФ. Овим би се могла објаснити робусна инфилтрација неутрофилима у дисајном путу обољелих од ЦФ. Нижи нивои неутрофилне елстазе (НЕ) у супернатантима култура гранулоцита периферне крви код дјече обољеле од ЦФ,

прије и након стимулације, подржава хипотезу о поремећеном имунском одговору код ЦФ.

6. Примјенљивост и корисност резултата у теорији и пракси³

Процјена функције гранулоцита периферне крви код дјете са ЦФ, може послужити за боље разумијевање патофизиолошких механизма инфламације која лежи у основи ове болести, али и објаснити настанак одређених компликација које утичу на дужину живота ових пацијената. С тим у вези, будући да ниједна досадашња терапија није успјела да санира хроничну инфламацију у плућима код ЦФ циљање појединих функција неутрофила, би могла бити разумна терапијска опција.

7. Начин презентирања резултата научној јавности⁴

Др Оливера Љубоја је дио резултата свог истраживања приказала на 6. Европском конгресу Имунолога, одржаном виртуално у септембру 2021. године и у European Journal of Immunology (Volume 51, Suppl. 1, August 2021.).

Рад за часопис је у припреми.

³ Истаћи посебно примјенљивост и корисност у односу на постојећа рејешења теорије и праксе

⁴ Наводе се радови докторанта у зборницима и часописима у којима су објављени (истраживачки проблеми и резултати предмета истраживања докторске дисертације)

8. ЗАКЉУЧАК И ПРЕДЛОГ⁵

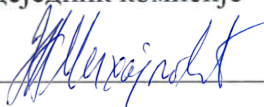
На основу детаљне анализе докторске дисертације под називом „Процјена поремећаја функције неутрофилних гранулоцита периферне крви код дјеце са цистичном фиброзом“, Комисија је закључила да је кандидаткиња изабрала актуелну и оригиналну тему истраживања коју је провела поштујући принципе научног рада и користећи савремене методе испитивања и анализе резултата. Добијени резултати представљају значајан допринос савременој медицинској науци, посебно у области пулмологије и имунологије. На основу свега наведеног, Комисија 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 Оливери Љубоји, у поступку стицања звања, доктора медицинских наука.

Мјесто: Фоча

Датум: јун, 2022.

Комисија:

1. Доц. др Душан Михајловић, ужа научна област Биохемија, Медицински факултет у Фочи, предсједник комисије



2. Академик Проф. др Миодраг Чолић, ужа научна област Имунологија, Медицински факултет у Фочи, члан комисије

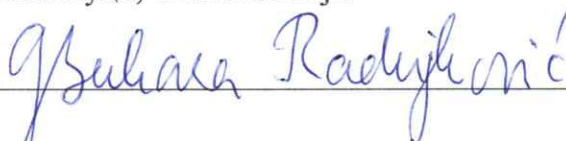


3. Проф. др Предраг Минић, ужа научна област Педијатрија, Медицински факултет у Београду, члан комисије

4. Проф. др Јелица Предојевић Самарцић, ужа научна област Педијатрија, Медицински факултет у Бања Луци, члан комисије



5. Проф. др Гордана Букара Радужиковић, ужа научна област Педијатрија, Медицински факултет у Бања Луци, члан комисије.



⁵У закључку се, поред осталог, наводи и назив квалификације коју докторант стиче одбраном тезе