

Одлуком Наставно-научног вијећа Медицинског факултета у Фочи, Универзитета у Источном Сарајеву, број 01-03-193 од 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: Комисија<sup>1</sup>) 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

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 |
|------------------------------------------------------------------------------------------------------|

|                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                     |
|-----------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------|
| <p>Урађена докторска дисертација, у којој је испитан утицај селективног агонисте А3 рецептора аденозина, пиклиденозона, на фенотипске и функционалне карактеристике хуманих ћелија периферне крви <i>in vitro</i>, обрађује проблематику која је са научног аспекта актуелна и значајна. Агонисти А3 рецептора као група лијекова представљају актуелну тему истраживања у посљедње двије деценије Хумани А3 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 А3 рецептора. У посљедње двије деценије, А3 аденозински рецептор бива препознат као потенцијална терапијска мета у борби против инфламације и тумора. Откривени су високи нивои експресије А3 рецептора у моноклеарним и туморским ћелијама пацијената са карциномом дојке, дебелог цријева, плућа, панкреаса и меланома.</p> |
|-----------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------|

Осим што представља терапијски циљ, А3 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 А3 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 имуномодулативна 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 мононуклеарне 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, модулативну фенотипских карактеристика ћелија и инхибицију производње IL-8 и ензима азурофилних гранула — неутрофилне еластазе и мијелопероксидазе. Такође, резултати су по први пут показали да А3 агонист, пиклиденозон, инхибира пролиферацију мононуклеарних ћелија периферне крви у наномоларном опсегу. Антиинфламацијска и имуномодулативна својства лијека показана су и кроз инхибицију производње проинфламацијских цитокина тумор-некротишући фактор алфа (TNF- $\alpha$ ), интерлеукина 23 (IL-23), интерлеукина 36 (IL-36), као и Th1 цитокина интерферона гама (IFN- $\gamma$ ), Th2 цитокина интерлеукина 5 (IL-5) и Th17 цитокина интерлеукина 17 (IL-17) и стимулацијом продукцију антиинфламацијског цитокина интерлеукина 10 (IL-10). Оригиналношћу докторске дисертације огледа се управо у наведеним резултатима, који могу допринијети проширењу постојећих знања о примјени А3 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 истраживању коришћењем савремене и комплексне методологије добила значајне и оригиналне резултате који су показали антиинфламацијска својства пиклиденозона кроз инхибицију проинфламацијских својстава неутрофилних гранулоцита и мононуклеарних 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 А3 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- $\alpha$ , стимулисао продукцију антиинфламацијског цитокина IL-10 и инхибирао продукцију Th-поларишућих цитокина IFN- $\gamma$ , IL-5 и IL-17.

#### 4. Оцјена о испуњености обима и квалитета у односу на пријављену тему (по поглављима)<sup>2</sup>

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 А3 аденозинског рецептора, као и молекулска и фармаколошка својства пиклиденозона, селективног А3 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 А3 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 стимулираних хуманих мононуклеарних ћелија периферне крви у смислу пролиферације, продукције проинфламацијских и имуномодулаторних цитокина и Th 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 реагенса. 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 графикана, 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.

Оригинални научни допринос кандидаткиње у овом истраживању представља: доказ о нецитотоксичности пиклиденозона до концентрације лијека од 1000 nM; доказивање инхибиторних ефеката 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 пракси<sup>3</sup>

Захваљујући високој експресији A3 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 A3 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 A3 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 јавности<sup>4</sup>

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) у марту 2025. године. (DOI: <https://doi.org/10.2298/VSP241004010K>).

## 8. ЗАКЉУЧАК И ПРИЈЕДЛОГ<sup>5</sup>

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

- 
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
- 

---

<sup>2</sup> Комисија мора бити именована у складу са чланом 40. Правилника о студирању на трећем циклусу студија на Универзитету у Источном Сарајеву

<sup>3</sup> Испуњеност 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 прилаз у доказивања тврдњи или претпоставки у хипотезама, са обрадом података.

<sup>4</sup> Истаћи посебно примјенивост и корисност у односу на постојећа рејешења теорије и праксе.

<sup>5</sup> У складу са чланом 37. Правилника о студирању на трећем циклусу студија на Универзитету у Источном Сарајеву.

<sup>6</sup> У закључку се, поред осталог, наводи и назив квалификације коју докторанд стиче одбраном тезе

---

Издвојено мишљење<sup>1</sup>:

1. \_\_\_\_\_, у звању \_\_\_\_\_ (НО \_\_\_\_\_, УНО

\_\_\_\_\_,  
Факултет \_\_\_\_\_ у \_\_\_\_\_ Универзитет \_\_\_\_\_,  
\_\_\_\_\_, члан Комисије;

Образложење:

\_\_\_\_\_

---

<sup>1</sup> 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)



