

УНИВЕРЗИТЕТ У БАЊОЈ ЛУЦИ
МЕДИЦИНСКИ ФАКУЛТЕТ



ИЗВЕШТАЈ

о оцени урађене докторске тезе

ПОДАЦИ О КОМИСИЈИ

На основу члана 149. Закона о високом образовању Републике Српске (Службени гласник Републике Српске број 73/10, 104/11 и 84/12) и члана 54. Статута Универзитета у Бањој Луци, Наставно-научно веће Медицинског факултета на седници одржаној 27.09.2013. године, донело је Одлуку (број 18-3-631/2013) о именовану Комисије за оцену докторске тезе “Интерферон ламбда у имунском одговору на *Mycobacterium tuberculosis*“, у следећем саставу:

1. Др Вера Правица, редовни професор, ужа научна област микробиологија, Медицински факултет Београд - председник,
2. Др Маринко Вучић, ванредни професор, ужа научна област интерна медицина, Медицински факултет Бања Лука - члан,
3. Др Мирослав Петковић, ванредни професор, ужа научна област микробиологија, Медицински факултет Бања Лука - члан
4. Др Бранислава Савић, редовни професор, ужа научна област микробиологија, Медицински факултет Београд - *резервни члан*
5. Др Здравка Кезић, доцент, ужа научна област инфектологија, Медицински факултет Бања Лука - *резервни члан*.

Именована комисија подноси Наставно-научном већу Медицинског факултета Универзитета у Бањој Луци следећи извештај.

1. УВОДНИ ДЕО ОЦЕНЕ ДОКТОРСКЕ ТЕЗЕ

Докторска теза кандидата Мр Маје Травар написана је латиничним писмом (фонт Times New Roman, фонт 12, проред 1,5) и штампана на А4 формату.

Теза је написана прегледно, јасно и језички коректно, на 120 страница уз цитирање 194 научне референце. Садржи 34 слике које прате текст и 19 табела.

У складу са методологијом научно-истраживачког рада, докторска теза садржи следећа поглавља: 1. Увод, 2. Циљеви истраживања, 3. Радне хипотезе, 4. Испитаници и методе испитивања, 5. Резултати, 6. Дискусија, 7. Закључци и 8. Литература. На крају рада наведена је и Листа скраћеница које су коришћене у писању докторске дисертације.

2. УВОД И ПРЕГЛЕД ЛИТЕРАТУРЕ

Уводни део докторске тезе написан је на 58 страна. Сваки навод или пасус праћен је одговарајућом референцом из новије литературе или актуелним извором података. На почетку уводног дела аутор је представио најновија истраживања из проблематике туберкулозне инфекције, будући да је туберкулоза једна од најчешћих бактеријских болести на свету. Светска здравствена организација процењује да је само у 2009. години било 9,4 милиона нових случајева туберкулозе, а да је 2 милијарде људи латентно инфицирано *Mycobacterium tuberculosis*, односно једна трећина светске популације. Већина инфекција остаје асимптоматска, захваљујући заштитном имунском одговору. Аутор је највећу пажњу посветио објашњавању имунског одговора на *Mycobacterium tuberculosis*, при чему најважније имунске факторе у контроли инфекције представљају интерферон гама (IFN- γ) и CD4+ лимфоцити.

Имунски одговор у дисертацији објашњен је веома детаљно почевши од механизма уласка бактерије, преко интрацелуларног преживљавања, те до механизма којим *M. tuberculosis* избегава имунски одговор.

Аутор затим даје детаљан приказ података о новооткривеном типу интерферона, будући да су током 2003. године две групе истраживача независно / откриле три нова интерферону слична цитокина који су означени као IFN- λ 1, IFN- λ 2 и IFN- λ 3.

Посебна пажња посвећена је биолошким карактеристикама IFN- λ , при чему су његова каскада сигнализирања и механизми активације веома слични IFN типа I. Агонисти „Toll like“ рецептора (TLR) индукују диференцијалну експресију IFN- α , - β и - λ гена у плазматичним дендритским ћелијама. Познато је да микроорганизми или њихове

структурне компоненте, као што су бактеријска ДНК, ендотоксин и дсРНК, индукују експресију IFN- λ . Липополисахарид као агонист TLR, те поли I:C који сигнализирају преко TLR3 и 4, индукују експресију IFN- β и IFN- λ .

Посебан нагласак у уводном делу дисертације посвећен је имунорегулаторним карактеристикама IFN- λ .

Недавно је доказано да инфекција *M.tuberculosis* у експерименталном моделу доводи до експресије одговарајуће mRNK за IFN- λ *in vitro*. То је до сада једина студија која је доказала експресију IFN- λ код инфекције *M.tuberculosis*. Сама улога IFN- λ у контроли инфекције још увек је непозната, мада се претпоставља да имуномодулаторне карактеристике IFN- λ могу утицати на секрецију цитокина типа Th1 и тиме допринети контроли инфекције.

У овде представљеној докторској дисертацији, циљеви рада које је кандидат поставио били су следећи:

1. Утврдити да ли постоји статистички значајна разлика у нивоу IFN- λ у спутуму особа са активном туберкулозном инфекцијом (туберкулоза потврђена клинички, радиолошки и позитивном културом на Löwenstein подлози) у односу на нивое IFN- λ у спутуму здравих особа.
2. Утврдити да ли постоји статистички значајна разлика у нивоу IFN- λ у спутуму особа са активном туберкулозном инфекцијом (туберкулоза потврђена клинички, радиолошки и позитивном културом на Löwenstein подлози) у односу на нивое IFN- λ у спутуму особа са латентном туберкулозом.
3. Утврдити да ли постоји статистички значајна разлика у нивоима IFN- λ у спутуму пацијената на почетку антитуберкулозне терапије (мање од 7 дана) у односу на групу пацијената који су дуже на антитуберкулозној терапији (од 7 до 45 дана).

До сада ниједна студија, која је аутору била доступна, није одређивала нивое IFN- λ код пацијената оболелих од активне туберкулозе. Значај овде представљене студије је у томе што доприноси увиду у имунски одговор на *M.tuberculosis*.

Литература коришћена у изради докторске дисертације правилно је цитирана, адекватна, савремена и укључује све аспекте истраживања.

3. МАТЕРИЈАЛ И МЕТОД РАДА

Истраживањем је обухваћено 88 испитаника, подељених у три испитне групе. У првој групи били су пацијенти са активном туберкулозом, у другој групи биле су особе са латентном туберкулозом, а у трећој групи здраве особе. У студији је као узорак коришћен спутум узет од испитаника у дефинисаним групама. За сваког испитаника урађен је налаз по скали Бартлет за евалуацију квалитета узорка спутума, БК налаз и култура на Löwenstein подлози.

Ниво IFN- λ у спутуму доказан је дијагностичким тестом LEGEND MAX™ Хуман IL-28 A (IFN- λ 2) BioLegend ELISA китом, према препорукама произвођача. Сензитивност теста износила је 1 pg/mL.

За узорак је коришћен супернатант добијен центрифугирањем узорка на 10.000 rpm, који је морао бити чист, без трагова слузи или ћелијског детритуса. Довољна количина узорка добијена је од 51 пацијента, 21 особе латентно инфициране туберкулозом, те 16 здравих особа. Пошто се хомологија међу различитим изотиповима IFN- λ 2 и IFN- λ 3 креће око 95%, овај високо сензитивни сендвич есеј је могао да детектује већину произведеног IFN- λ након стимулације TLR. Пошто су биолошки ефекти сва три изотипа IFN- λ једнаки, а сигнализација се одвија преко истог рецептора, мерење нивоа IFN- λ овим тестом даје задовољавајући увид у секрецију овог цитокина.

Статистичка обрада узорака извршена је програмским пакетом Stath Math. За тестирање нормалности расподеле коришћен је Колмогоров-Смирнов тест. За тестирање статистичке значајности коришћен је Mann-Whitney U тест. За статистички значајан резултат узета је вредност $p < 0,05$. За испитивање корелације између налаза по скали Бартлет за евалуацију квалитета спутума у односу на ниво IFN- λ у спутуму у три испитиване групе, коришћен је Спирман rho тест. Такође, коришћен је тест логистичке регресије за процену предиктивности теста.

Примењене методе су адекватне и савремене и омогућиле су да се добију логични и корисни резултати. Није било промена плана истраживања, а испитивани параметри су дали довољно елемената да се остваре сви задани циљеви истраживања. Статистичка обрада података је адекватна, будући да су се у анализи користиле одговарајуће методе дескриптивне и аналитичке статистике. Резултати су јасно конципирани и представљени, табеларно и графички.

4. РЕЗУЛТАТИ И НАУЧНИ ДОПРИНОС ИСТРАЖИВАЊА

Приказане су демографске карактеристике испитиваног узорка, а затим детаљи резултата испитивања нивоа IFN λ по групама.

Резултати су правилно, логично и јасно тумачени, те поређени са истраживањима других аутора уз довољно критичности.

Допринос представљене докторске дисертације је у томе што је доказано да постоји статистички значајна разлика у нивоу IFN- λ у спутуму пацијената са активном туберкулозом у односу на ниво IFN- λ у спутуму здравих особа (19,69 pg/mL vs. 13,19 pg/mL, $p < 0,01$) и особа са латентном туберкулозом (19,69 pg/mL vs. 14,76 pg/mL, $p < 0,01$).

У студији је доказан и статистички значајно виши ниво IFN- λ у спутуму пацијената са активном туберкулозном инфекцијом, којима је болест тек откривена или се налазе на почетку антитуберкулозне терапије, у односу на ниво IFN- λ у спутуму пацијената који су дуже од 7 дана на антитуберкулозној терапији (30,73 pg/mL vs. 15,08 pg/mL, $p < 0,01$). Доказана је и статистички значајна повезаност између нивоа IFN- λ и резултата културе (OR= 4,73; 95% CI=1,28-17,5; $p = 0,019$). У представљеној докторској дисертацији доказано је да у групи пацијента са активном туберкулозном инфекцијом постоји статистички значајна корелација између налаза по скали Бартлет у односу на ниво IFN- λ у спутуму ($r = 0,641$).

Ово запажање је веома занимљиво, јер је доказано да само активирани заражени макрофаги и дендритске ћелије (DC) могу бити извор IFN- λ и то у току активне инфекције. Оваква корелација доказана је само у групи особа са активном туберкулозном инфекцијом, а не у остале две групе, што доказује да само стимулирани запаљенски ћелијски елементи могу да буду извор овог цитокина.

Након престанка стимулације рецептора компонентама *M.tuberculosis*, ниво IFN- λ у спутуму приближава се у просеку нивоу IFN- λ код латентно инфицираних и здравих особа.

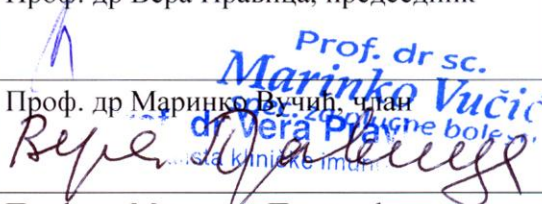
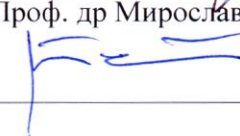
Познато је да IFN- $\lambda 2$ индукује производњу цитокина Th1, које луче CD4⁺ Т лимфоцити. IFN- λ инхибира Th2 одговор преко смањења секреције IL-13, те преко пораста секреције IFN- γ . Ова карактеристика може бити од значаја као додатни механизам за контролу инфекције *M.tuberculosis*.

Написана дискусија показује способност кандидата да синтетизује податке, разматра резултате, доводи их у међусобну везу и упоређује са доступним подацима из литературе.

5. ЗАКЉУЧАК И ПРЕДЛОГ

Докторска теза „Интерферон ламбда у имунском одговору на *Mycobacterium tuberculosis*“ урађена је у складу са образложењем које је приложено приликом пријаве тезе. Теза је урађена по правилима и принципима израде научно-истраживачког рада. Резултат је оригиналног стручног и научног рада кандидата. Теза је методолошки добро постављена, а материјал је статистички адекватно обрађен. Закључци су засновани на релевантним чињеницама. Резултати и закључци представљају оригиналан допринос науци. Теза је оригинална и као прва из ове области у нашој средини посебно значајна. Комисија за оцену урађене докторске тезе једногласно даје позитивну оцену докторској тези „Интерферон ламбда у имунском одговору на *Mycobacterium tuberculosis*“, кандидата *mg. sc.* Маје Травар и предлаже Наставно-научном већу Медицинског факултета Универзитета у Бањој Луци и Сенату Универзитета у Бањој Луци да прихвати овај извештај и омогући јавну одбрану тезе.

ПОТПИС ЧЛАНОВА КОМИСИЈЕ

1.	Проф. др Вера Правица, председник
2.	Проф. др Маринко Вучић, члан  Prof. dr sc. Marinko Vucic dr. Vera Pravica Klinika za infektivne bolesti i sta klinicke imunitet
3.	Проф. др Мирослав Петковић, члан  Проф. др МИРОСЛАВ ПЕТКОВИЋ СПЕЦ. МЕД. МИКРОБИОЛОГИЈЕ