

УНИВЕРЗИТЕТ У БАЊА ЛУЦИ		
МЕДИЦИНСКИ ФАКУЛТЕТ БАЊА ЛУКА		
Примљено:	25.11.2021.	
Орг. јед.	Број	Прилог
Образац - 2		
18/4. 24/21		



## ИЗВЈЕШТАЈ

*о оијени подобности теме, кандидата и ментора за израду докторске дисертације*

### I ПОДАЦИ О КОМИСИЈИ

Орган који је именовао комисију: Научно - наставно вијеће Медицинског факултета Универзитета у Бањој Луци на 1. редовној сједници.

Датум именовања комисије: 14.10.2021. године

Број одлуке: 18/3.608/2021

Састав комисије:

1. Гајанин Радослав	Редовни професор	Патологија
Презиме и име	Звање	Научно поље и ужа научна област
Универзитет у Бањој Луци		Пресједник комисије
Установа у којој је запослен-а		Функција у комисији
2. Петровић Владимир	Ванредни професор	Хистологија и ембриологија
Презиме и име	Звање	Научно поље и ужа научна област
Медицински факултет, Универзитет у Нишу		Члан
Установа у којој је запослен-а		Функција у комисији
3. Јовић Марко	доцент	Хистологија и ембриологија
Презиме и име	Звање	Научно поље и ужа научна област
Медицински факултет, Универзитет у Нишу		Члан
Установа у којој је запослен-а		Функција у комисији
4.	Презиме и име	Звање
		Научно поље и ужа научна област

	Установа у којој је запослен-а	Функција у комисији	
5.	Презиме и име	Звање	Научно поље и ужа научна област
Установа у којој је запослен-а		Функција у комисији	

## **II ПОДАЦИ О КАНДИДАТУ**

1. Име, име једног родитеља, презиме: Сања, Драго, Јовићић
2. Датум рођења: 09.12.1988 Мјесто и држава рођења: Теслић, Босна и Херцеговина

### **II.1 Основне студије**

Година уписа:  Година завршетка:  Просјечна оцјена током студија:

Универзитет: Универзитет у Бањој Луци

Факултет/и: Медицински факултет

Студијски програм: Медицина

Звање: Доктор медицине

### **II.2 Мастер или магистарске студије**

Година уписа:  Година завршетка:  Просјечна оцјена током студија:

Универзитет: \_\_\_\_\_

Факултет/и: \_\_\_\_\_

Студијски програм: \_\_\_\_\_

Звање: \_\_\_\_\_

Научна област: \_\_\_\_\_

Наслов завршног рада: \_\_\_\_\_

### **II.3 Докторске студије**

Година уписа:

Факултет/и: Медицински факултет

Студијски програм: Биомедицинске науке

Број ЕЦГС до сада остварених:  Просјечна оцјена током студија:

#### **II.4 Приказ научних и стручних радова кандидата**

Р. бр.	Аутори, наслов, издавач, број страница	Категорија <sup>1</sup>
1.	<i>Ljubojević V, Jovičić S, Mavija M, Vučković Z. Efficacy of two different antibiotic solutions in preservation of fresh amniotic membrane. Biomedicinska istraživanja. 2020; 11(1)20-28.</i>	Прва

*Кратак опис садржине:*

Увод. Амнионска мембрана користи се у трансплантијској хирургији, офтальмологији, дерматологији. За презервацију амнионске мембране су развијене различите методе: хипотермно чување, криопрезервација, лиофилизација. Трансплантија свеже хипотермно чуване амнионске мембрани изазива инфламаторни одговор ниског интензитета. За припрему и хипотермно чување амнионске мембране бира се антибиотски раствор који ће ефикасно дјеловати против микроорганизама који обично контаминирају ткиво. Циљ ове студије био је да се упореди ефикасност два различита антибиотска раствора за презервацију свеже амнионске мембране и утврди хистолошка структура амнионске мембране након поступка презервације.

Методе. петнаест свежих амнионских мембрана је хипотермно презервирано у раствору пеницилина у БСС(концентрација 200 IU/ml БСС), а петнаест у раствору антибиотика у БСС који садржи бензил пеницилин (50µg/ml), гентамицина (100µg/ml), ципрофлоксацин (200 µg/ml) и флуконазол (100µg/ml). Све амнионске мембране су након припреме и након хипотермног чувања, током двије седмице, микробиолошки тестиране. Хистолошка анализа тридесет амнионских мембрана након процеса презервације је урађена.

Резултати. Петнаест амнионских мембрана је било стерилно након хипотермене презервације у раствору пеницилина. Такође, петнаест амнионских мембрана је било стерило након хипотермне презервације у раствору антбактеријских агенаса (пеницилин, гентамицин, ципрофлоксацина) и флуконазола. Хистолошком анализом амнионских мембране након процеса презервације је утврђена очувана хистолошка структура.

Просјечна дебљина амнионске мембране је била  $35,33 \pm 11,03 \mu\text{m}$ .

Закључак. Оба антибиотска раствора, онај који садржи само пеницилин и онај који садржи више антбактеријских агенаса и флуконазол, обезбеђује стерилост свежих хипотермно чуваних амнионских мембрана током двије недеље. У припреми свеже хипотермно чуване амнионске мембране предност има раствор са више антибиотика. Нормална структура ткива амнионске мембране је хистолошки потврђена након процеса презервације.

Кључне ријечи: амнионска мембра, презервација ткива, хистолошке карактеристике

*Рад припада проблематици докторске дисертације:      ДА      НЕ      ДЈЕЛИМИЧНО*

Р. бр.	Аутори, наслов, издавач, број страница	Категорија
2.	<b>Јовићић С</b> , Петровић Тепић С, Божић Љ, Јовић Д. Учесталост хидронефрозе код дијеце иadolесцената хоспитализованих на	Прва

<sup>1</sup> Категорија се односи на оне часописе и научне скупове који су категорисани у складу са Правилником о публиковању научних публикација („Службени гласник РС“, бр. 77/10) и Правилником о мјерилима за остваривање и финансирање Програма одржавања научних скупова („Службени гласник РС“, бр. 102/14).

Клиници за дјечије болести Бања Лука. Биомедицинска истраживања. 2016; 7 (1): 21-26	
--	--

*Кратак опис садржине:*

Увод. Хидронефроза представља дилатацију бубрежне карлице и бубрежних чашица, и није синоним за опструкцију. Циљ овог рада био је утврђивање учесталости хидронефрозе, њене дистрибуције према полу и узрасту, анализирање клиничких манифестација, локализације и градуса хидронефрозе, као и удружености са другим аномалијама урогениталног система.

Методе. Ретроспективном студијом обухваћено је 79 пацијената оба пола, узраста од 0 до 18 година, са дијагнозом Hydronephrosis, који су били хоспитализовани на Одјељењу нефрологије, Клинике за дјечје болести Бања Лука током 2012. године. Подаци су прикупљени из расположиве медицинске документације. Анализиране су клиничке манифестације, дистрибуција хидронефрозе у односу на пол и узраст, локализацију и степен хидронефрозе, постојање придружених аномалија уротракта и процедуре које су вршене у току дијагностичке обраде пацијента.

Резултати. Од укупно 466 хоспитализованих пацијената, 16,9% пацијената је имало хидронефрозу. Највећи број је откривен током пренаталног периода (70,9% дјечака и 29,1% дјевојчица), те је утврђено да постоји статистички значајна разлика у броју оболелих у односу на пол ( $p<0,001$ ). Код 54,4% пацијената узрок настанка је опструкција пијело-уретеричног сегмента, а као најчешћу клиничку манифестацију налазимо инфекције уринарног тракта по типу Pyelonephritis acuta. Код 81% дјеце присутна је унилатерална хидронефроза, при чему је највише заступљена блага дилатација канала система. Код 39,2% испитаника утврђене су и друге патолошке промјене урогениталног тракта.

Закључак. Редовном примјеном пренаталног ултразвука могу се на вријеме уочити аномалије уринарног тракта, одабрати одговарајући терапијски приступ и тиме избјећи могуће компликације.

*Рад припада проблематици докторске дисертације:*      **ДА**      **НЕ**      **ДЈЕЛИМИЧНО**

Р. бр.	Аутори, наслов, издавач, број страница	Категорија
1.	Божић Љ, <b>Јовићић С</b> , Шмитран А. Значај хуманих папилома вируса у настанку карцинома главе и врата. <i>Scr Med.</i> 2016; 47(1):69-73.	Прва

*Кратак опис садржине:*

Карциноми главе и врата су хетерогена група оболења. Хистопатолошки, то су планоцелуларни карциноми плочасто слојевитог епитела (енгл. HNSCC) коже главе и врата, слузница горњег аеродигестивног тракта, фаринга и ларинга. HNSCC је пети најчешћи малигни тумор код људи широм свијета. У највећем броју случајева HNSCC се доводи у везу са конзумацијом алкохола и дувана. Последњих година рађена су истраживања чији је циљ био доказати улогу хуманих папилома вируса (HPV) у карциногенези HNSCC. Преваленца HPV-а у HNSCC је око 30%. HPV је чешће детектован у биолошком материјалу особа мушких пола. Особе са HPV позитивним HNSCC боље реагују на терапију и имају повољнији исход лијечења у односу на пацијенте код којих није доказан HPV. У будућности, HPV треба да буде маркер који ће утицати на избор терапије код оболелих од HNSCC, али и фактор који ће указати на исход овог малигнома код пацијената.

*Рад припада проблематици докторске дисертације:*      **ДА**      **НЕ**      **ДЈЕЛИМИЧНО**

Р. бр.	Аутори, наслов, издавач, број страница	Категорија
1.	Думановић И, Станетић К, <b>Јовићић С</b> , Маринковић О, Вуковић Д. Фактори ризика за кардиоваскуларне болести код болесника са инфарктом миокарда. 5. Међународни Конгрес доктора медицине Републике Српске, Теслић. Зборник сажетака и изабраних радова у	

цијелини, пп.53-59, Новембар, 2017.	
-------------------------------------	--

*Кратак опис садржине:*

Увод: Кардиоваскуларне болести су водећи узрок преране смрти и инвалидитета у свијету, посебно у земљама у развоју. Водећи узрок смрти од кардиоваскуларних болести је исхемијска болест срца због које настаје 45% смрти у свијету, односно 54,6% смрти у Европи.

Циљ: Пацијенти присуство поједињих фактора ризика за КВБ код болесника који су имали инфаркт миокарда и пациенти који су најчешћи фактор ризика присутни у популацији.

Предложити мјере секундарне превенције превентабилних фактора ризика за КВБ

Методе: Израђена је ретроспективна студија у Болници за рехабилитацију пацијената са кардиоваскуларним оболењима Бања Врућица у Теслићу, у току 2016. године. У истраживање су укњучени болесници који су имали инфаркт миокарда и који су били примљени на рехабилитацију у Болници. Прикупљени су подаци о старосној доби, полу, индексу тјелесне масе (БМИ), вриједностима укупног холестерола, триглицерида, гликемији, дијабетесу, подаци о пушачком статусу, висини крвног притиска, трајању хипертензије и постојању ранијег акутног кардиоваскуларног догађаја болесника (ранији ИМ, ПЦИ, ЦАБГ, операције срчане валвуле и претходни можданi удар) из медицинске документације болесника.

Резултати: Од укупно 337 болесника који су имали инфаркт миокарда 78,04% је мушкираца, а 21,96% жена. Свега 29,08% болесника је старије од 65 година. Најчешће удрожен превентабилни фактор ризика са инфарктом миокрада је гојазност (84,87%) затим слиједи пушење (76; 56%), хипертензија која траје дуже од 10 година (55,19%), дијабетес (20,77%) и хиперлипидемија (12,76%). Већина је имала удрожена 3 фактора ризика. За 22,85% болесника инфаркт миокарда је био прва манифестација КВБ, поновљен ИМ имало је 6, 28% болесника, ИМ са коронарографијом и имплантацијом стента имало је 83, 09% болесника, а ИМ са хируршком реваскуларизацијом миокарда је имало 16, 91% болесника.

Закључак: У циљу превенције настанка будућег акутног кардиоваскуларног догађаја важно је умањити бројне факторе ризика. То је значајан задатак и велики изазов и за здравствене раднике и за болеснике. Бројни фактори ризика, чак и ако постоје се могу умањити добрым менаџментом и лијечењем.

Кључне ријечи: инфаркт миокарда, фактори ризика, гојазност, пушење, хипертензија, дијабетес, хиперлипидемија.

Рад припада проблематици докторске дисертације:	ДА	НЕ
ДЈЕЛИМИЧНО		

Да ли кандидат испуњава услове?

ДА

НЕ

### III ПОДАЦИ О МЕНТОРУ/КОМЕНТОРУ

Биографија ментора (до 1000 карактера):

**Проф. др Иван Р. Николић**

#### Позиција:

- Редовни професор на Катедри за хистологију и ембриологију, Медицински факултет, Универзитет у Нишу, Република Србија
- Настава на другим универзитетима
  1. Медицински факултет у Фочи, Универзитет у Источном Сарајеву, Република Српска, Босна и Херцеговина (шef предмета Хистологија и ембриологија)
  2. Медицински факултет, Универзитет у Бања Луци, Република Српска, Босна и Херцеговина.
  3. Универзитет одбране, Универзитет одбране у Београду, Медицински факултет ВМА (четири године шef предмета Хистологија и ембриологија)

#### Образовање и квалификације

- **Доктор наука** у области медицинских наука (ембриологија), „Неуроендокрине ћелије и пептидергична нервна влакна хумане јетре и жучне кесе у ембриофетусном развоју“, Медицински факултет, Универзитет у Нишу, 26.12.1996. године.
- **Магистар наука** у области медицинских наука (ембриологија) „Динамика развоја и морфолошке карактеристике интерлобулусних простора јетре човека од ембрионалног периода до десете године живота“ Медицински факултет, Универзитет у Нишу, 08.01.1992. године.
- **Доктор медицине** – Медицински факултет, Универзитет у Нишу, Србија (1981-1986)

#### Усавршавање

- Научно оспособљавање из области хистологије и ембриологије, Медицински факултет у Нишу, 1987-1988. (Стипендија регионалне заједнице науке).
- Курс из стереологије, Љубљана, 1987.
- Курс "Примена електронске и видеомикроскопије у биомедицини", Београд, 1991.
- Вишеборавака у Институту за медицинска истраживања у Београду (1993-1996)

#### Чланство у домаћим и страним удржијима:

- Српско лекарско друштво
- Српско друштво за микроскопију (члан председништва од 2005-2010.)
- Српско анатомско друштво
- Друштво за неуронауке Србије
- Секција за хистологију и ембриологију СЛД

#### Чланство у организационим научнопрограмским одборима

- Организациони одбор 2. Конгреса за електронску микроскопију, Београд, 1996.
- Организациони одбор 25. Конгреса Друштва анатома Југославије, Ниш, 1998.
- Организациони одбор Научног семинара континуиране медицинске едукације (КМЕ): Мултимедијалне технологије и савремена методологија у едукацији из области морфолошких наука, Ниш, 2005.

- Организациони одбор семинара КМЕ: Од ткивног узорка до микроскопске фотографије - хистолошке, хистохемијске, имунохистохемијске и електрономикроскопске методе, Ниш, 2006.
- Организациони одбор семинара КМЕ: Од ткивног узорка до микроскопске фотографије - обрада ткивних узорака, хистохемија, ензимохистохемија, имунохистохемија, проточна цитометрија, култура ћелија и електронска микроскопија, Ниш, 2009.
- Научни одбор Конгреса ДАЈ, Нови Сад 2016.

Радови из области којој припада приједлог докторске дисертације:

P. бр.	Аутори, наслов, издавач, број страница Одабране публикације у часописима од међународног и националног значаја
1.	<i>Radosavljević T, Nikolić I, Todorović V, Šikić B, Nikolić-Judith A. Effect of a portocavalshunt on the enteroinsular axis in rats. Acta Veterinaria 51: 275-282, 2001.</i>
2.	<i>Radosavljević T, Todorović V, Šikić B, Marinković S, Nikolić-Judith A, Boričić I, Drndarević N, Nikolić I, Vučević D. Insulin-like growth factor in rats with portocaval shunting. Periodicum Biologorum 106: 403-410, 2004.</i>
3	<i>Radosavljević T, Todorović V, Nikolić I, Petakov M, Šikić B, Vučević D. Gastrin (G) and enterochromaffin-like (ECL) cells in the stomach of portocaval – shunted rats- Radioimmunological, immunocytochemical and ultrastructural study . Acta Veterinaria 55: 23-30, 2005.</i>
4.	<i>Todorović V, Sokić-Milutinović A, Drndarević N, Micev M, Mitrović O, Nikolić I, Wex T, Milosavljević T, Malfertheiner P. Expression of cytokeratins in Helicobacter Pylori – associated chronic gastritis of adult patients infected with cagA+ strains: an immunohistochemical study. World J Gastroenterol 2006; 12:1865-1873.</i>
5.	<i>Prokić B, Todorović V, Drndarević N, Vignjević S, Đikić D, Nikolić I, Marinković S, Slavik E. Idiopathic and secondary acquired megacolon in dogs is associated with diminished vasoactive intestinal polypeptide innervation of the affected colon. Acta Veterinaria 2009; 59:53-6.</i>
6.	<i>Leposavic G, Todorovic V, Nikolic I, Perisic M. Immunoreactive neuropeptides in the cells of human thymus. Archives Of Biological Sciences 2011; 63 (4): 971-977. IF: 0.360</i>
7.	<i>Vignjević S, Todorović V, Damjanović S, Budeč M, Mitrović O, Djikić D, Drndarević N, Mićić M, Mišković-Krivokapić J, Djuričić S, Nikolić I. Similar developmental patterns of gretin-and glicagon-expressing cells in the human pancreas. Cells Tissues Organs 2012; 196(4):362-373.</i>
8.	<i>Nikolic I, Todrovic V, Petrovic A, Petrovic V, Jovic M, Vladicic J, Puškaš N. Immunohistochemical heterogeneity of the endothelium of blood and lymphatic vessels in human liver in development and adulthood. Cells Tissues Organs 2017; 203(4):243-257.</i>
9.	<i>Nikolić M, Petrović A, Mitić A, Popović J, Nikolić I, Dačić S, Gašić J. A histological evaluation of bone tissue response to a sealer based on calcium hydroxide:an experimental study. Srp Ark Celok Lek 2017; 145(1-2):58-64.</i>
10.	<i>Petrovic A, Petrovic V, Milojkovic B, Nikolic I, Jovanovic D, Antovic A , Milic M. Immunohistochemical distribution of KI67 in epidermis of thick glabrous skin of human</i>

	<i>digits. Arch Dermatol Res 2018; 310(1):85-93.</i>
11.	Jović M, Nikolić I, Todorović V, Petrović A, Petrović V, Mojsilović M, Denčić T. <i>Distribution of collagen I, III, and IV and laminin in the human liver during prenatal development. Cells Tissues Organs 2018; 205(3):164-177.</i>
12.	Николић И. Мастоцити у тимусу пацова различитог узраста. Научни подмладак 1984; 16: 9-20.
13.	Николић И. Адвентиција силазне гране леве коронарне артерије срца као део артерије мишићног типа. Научни подмладак 1985; 17: 7-12.
14.	Николић И, Петровић С, Павловић С, Трајковски С, Стаменковић С. Мастоцит. Научни подмладак 1987; 19: 47-73.
15.	Николић И, Тодоровић В, Лепосавић Т, Коко В, Петровић С, Митић Д. Имуноактивност вазоактивног интерстинумског пептида у хематопоетским ћелијама јетре хуманог фетуса. <i>Acta medica mediana 1995; 6: 13-17</i>
16.	Đuknić-Pejović M, Katić V, Petrović S, Nikolić I. <i>The argyrophilic apud cells in the human fetal small intestine. Folia Anatomica Jugoslavica 1989-1990; 19: 65-70.</i>
17.	Аврамовић В, Петровић С, Ђукнић-Пејовић М, Мојсиловић М, Николић И. Имунолошки значај лимфоепителijалне кооперације у тонзилама млађег узраста. <i>Acta medica mediana 1991; 4: 5-15.</i>
18.	Петровић С, Анђелковић З, Николић И, Ранчић Г, Петровић А. Узајмана зависност између степена зрелости тимуса и развоја људског организма. <i>Acta medica mediana 1995; suppl. 1: 88-93.</i>
19.	Ђукнић-Пејовић М, Николић И, Лачковић В, Катић В. Перибилијарне жлијезде у јетри хуманог фетуса. <i>Acta medica mediana 1996; 3: 17-20.</i>
20.	Катић В, Оташевић В, Савић В, Стојановић Ј, Николић И, Илић Г. Хистолошки и ултраструктурни ефекти хероина на јетру човека. <i>Medicina forensic. 1997; 1: 9-12.</i>
21.	Pop-Trajković Z, Radenković G, Savić V, Miladinović P, Nikolić I, Todorović V, Mitić D. Scanning electron microscopic observation of the chorionic villi stroma of human placenta in the second trimester of pregnancy. <i>Folia Anatomica 2001; 29: 11-15, 2001.</i>
22.	Радисављевић М, Катић В, Николић И. Хистолошке и хистохемијске карактеристике слузокоже желуца пацова хронично третираних гастроземом. <i>Acta facultatis medicae naissensis. 1989; 9: 106-110.</i>
23.	Ђукнић-Пејовић М, Катић В, Петровић С, Николић И, Ранчић Г, Аврамовић В, Мојсиловић М. Хистолошке и хистохемијске карактеристике муцина у танком цреву хуманог фетуса. <i>Acta facultatis medicae naissensis. 1990; 10: 143-146</i>
24.	Radenkovć G, Nikolić I, Todorović V. <i>Interstitial cells of Cajal pacemakers of the intestinal musculature</i> (прегледни чланак). <i>Facta universitatis 2005; 12:1-5.</i>
25.	Николић И, Петровић С, Петровић А, Стаменковић С, и Станковић И. Развој респираторног система. Научни подмладак 1991; 22: 65-75.
26.	Николић И, Петровић С, Ранковић Г, Ранђеловић М, Петровић Б, Павловић З. Хистологија серозних овојница. <i>Acta medica mediana 1993; 4: 27-42.</i>
27.	Nikolić I, Todorović V, Petrović V, Petrović A, Mitić D. <i>Dynamics differentiation of chrogranin A-immunoreactive endocrine cells and myenteric plexus of the human fetal duodenum in the fifth month of development. Acta facultatis medicae naissensis 2010; 27:19-25.</i>
28.	Тодоровић В, Николић И. Глибетић М, Балинт Б. Хумане ембрионалне матичне ћелије – досадашња сазнања. <i>Аnestezija, reanimacija, transfuzija 2006; 34: 109-128.</i>

29.	<i>Jović M, Nikolić I, Todorović V, Petrović A, Petrović V, Denčić T. Immunoreactivity of lymphatic vessels in the liver of human fetuses of different gestational age. Acta facultatis medicae naissensis. 2017; 34: 23-3.</i>
-----	---

Да ли ментор испуњава услове?

ДА

НЕ

Биографија коментатора (до 1000 карактера):

**Проф. др Весна Љубојевић**

**Позиција:** Шеф Катедре за хистологију и ембриологију, Медицински факултет, Универзитет у Бања Луци, Бања Лука, Република Српска.  
Специјалиста офтальмологије, Клиника за очне болести, Универзитетско Клинички центар Републике Српске.

#### Образовање

- **Доктор наука** у области медицинских наука (хистологија и ембриологија) „Значај експресије p53, Ki-67 и VEGF-а у птергијуму коњунктиве“, Медицински факултет у Фочи, Универзитет у Источном Сарајеву, 2012. године.
- **Специјализација** из офтальмологије, Медицински факултет, Универзитет у Бања Луци, Република Српска, 2011. године.
- **Магистар наука** у области медицинских наука (хистологија и ембриологија) “Хистолошке карактеристике коњунктиве”, Медицински факултет, Универзитет у Бања Луци, Република Српска, 2003. године.
- **Доктор медицине** – Медицински факултет, Универзитет у Бања Луци, Република Српска, 1997. године.

#### Усавршавање

- УКЦ Љубљана: едукација за презервацију амнионске мемране.

#### Чланство

- Комора доктора медицине Републике Српске,
- Српско анатомско друштво Србије,
- Удружење офтальмолога Републике Српске.

Радови из области којој припада приједлог докторске дисертације:

Р. бр.	Аутори, наслов, издавач, број страница Одабране публикације у часописима међународног и националног значаја
1.	<i>Draganovic D, Cancarevic-Djajic B, Jojic D, Ljubojevic V, Todorovic J. The possibility of clinical use for the oxidative stress marker in correlation with blood flow parameters in pregnancy-induced hypertension. Rev Romana Med Lab 2021;29(2):143-151.</i>

2.	<i>Ljubojević V, Gajatin R, Amidžić L, Vučković Z. The expression and significance of p53 protein and Ki-67 protein in pterygium. Vojnosanit Pregl 2016;73(1):16-20.</i>
3.	<i>Gajatin R, Đurđević D, Knežević Ušaj S, Eri Ž, Ljubojević V, Karalić M, Risović T. Reliability of fine needle aspiration and ex tempore biopsy in diagnosis of salivary glands lesions. Vojnosanit Pregl 2014; 71(11):1018-1025</i>
4.	<i>Ljubojević V, Jovičić S, Mavija M, Vučković Z. Efficacy of two different antibiotic solutions in preservation of fresh amniotic membrane. Biomedicinska istraživanja 2020;11(1), 20-28.</i>
5.	<i>Bojanić V, Ljubojević, V. Research on the Influence of Prenatal Exercise on the Type of Delivery. Quality of life 2021;20(1-2): 5-12.</i>
6.	<i>Ljubojević V, Bojanić V, Skočić Smoljanović S. Uticaj fizičke aktivnosti na mikrocirkulatorne promjene kod zdravih trudnica. Sportske nauke i zdravlje 2021;12</i>
7.	<i>Ljubojević, V. Digital imaging analysis of the placenta. Contemporary Materials 2019;10:100-105</i>
8.	<i>Gajatin R, Gajatin Ž, Vučković Z, Gajatin V, Gojković Z, Ljubojević V. Immunohistochemical expression of p16ink4a in inflammatory, preneoplastic and neoplastic cervical lesions. Med Pregl 2015;68(3-4):85-92.</i>
9.	<i>Amidžić Lj, Gajatin R, Ljubojević V. Morphological characteristics of mitochondria in normal and malignant human breast epithelial cells correlate with estrogen and progesterone receptors: a stereological analysis. Biologija Serbica 2014; 36(1-2): 33-38</i>
10.	<i>Вујковић В, Микач Г, Козомара Р. Број и распоред мастоцита у коњунктиви ока са птеригијумом. Scr Med 2003;34(1):29-33</i>

Да ли коментор испуњава услове?

ДА

НЕ

#### IV ОЦЈЕНА ПОДОБНОСТИ ТЕМЕ

##### IV.1 Формулација назива тезе (наслова)

**ХЕМАТОПОЕТСКЕ МАТИЧНЕ ЋЕЛИЈЕ ХУМАНЕ ПОСТЕЉИЦЕ У РАЗЛИЧИТИМ ПЕРИОДИМА РАЗВОЈА-ИМУНОХИСТОХЕМИЈСКО И МОРФОМЕТРИЈСКО ИСТРАЖИВАЊЕ**

Наслов тезе је подобан?

ДА

НЕ

##### IV.2 Предмет истраживања

Предмет истраживања предложене теме је пренатална хематопоезе, односно даље разјашњавање улоге постелјице у пренаталној хематопоези. Постелјица је јединствен хематопоетски орган способна за стварање хематопоетских матичних ћелија (*HSCs*) *de novo*, она осигуруја микросредину која омогућава њихову пролиферацију, а у исто вријеме спречава њихову прерану диференцијацију у различите ћелијске линије. У истраживању имунохистохемијски ће се доказати различити имунохистохемијски профили (субпопулације) *HSCs* у постелјицама различитог периода развоја и морфометријски квантifikовати њихова нумеричка ареална густина. Тиме ће се, осим систематизације досадашњих сазнања из области пренаталне хематопоезе, утврдити да ли

је постельица потенцијални извор *HSCs* за лијечење хематоонколошких стања и урођених хематолошких поремећаја.

Предмет истраживања је подобан?

ДА

НЕ

#### IV.3 Најновија истраживања познавања предмета дисертације на основу изабране литературе са списком литературе

Постельица (плацента) је екстраембрионални привремени орган који се развија у материци труднице са циљем успостављања ефикасне размјене материје између мајке и плода. Једини је орган који се састоји из два ткива различитог поријекла, ткива плода (*pars fetalis*) и ткива мајке (*pars materna*). *Pars fetalis* чине хорионска плоча, хорионске ресице (вилуси) и интервилозни простори. Хорионска плоча се састоји од једнослојног кубичног амнионског епитела, амнионског везива (висцерални лист екстраембрионалног мезодерма) и хорионског везива (паријетални лист екстраембрионалног мезодерма). Током развоја разликујемо примарне, секундарне и терцијалне ресице. У прве дviјe недјељe развоја су присутне примарне ресице (садрже цитотрофобласт окружен синцитиотрофобластом) и секундарне ресице које настају када у централни дио примарне ресице ураста паријетални лист екстраембрионалног мезодерма. Продирањем крвних судова у мезодерм секундарних ресица настају терцијарне ресице, које могу бити адхерентне (stem), интермедијарне (незреле и зреле) и терминалне. Терцијарне ресице споља обавија трофобласт који је састављен из два дијела, цитотрофобласта и синцитиотрофобласта. Унутрашњост ресица испуњава хорионско везиво пројектето крвним судовима кроз које тече крв плода. Испод хорионске плоче налази се субхорионски фибринOID - изразито еозинофилна екстрацелуларна супстанца, састављена од фибрина, имуноглобулина, плацентног секрета и мртвих ћелија трофобласта. У зависности од локализације разликујемо *Rohrov*, *Nitabuchov* и *Langansov* фибринOID. *Pars materni* или *decidui basalis* чине крупне еозинофилне децидуалне ћелије окружене фибринOIDом. Базалну плочу чини децидуа базалис инфильтрована цитотрофобластним ћелијама [1, 2].

Осим раније познате респираторне, нутритивне, екскреторне, ендокрине и заштитне функције, описана је улога постельице и у хематопоези [3-7].

Хематопоеза је процес стварања уобличених елемената крви у организма хематопоетског система током пренаталног (ембрионалног и феталног) и постнаталног живота. Код одраслих људи процес хематопоезе одвија се у коштаној сржи, а различите зреле ћелије крви настају из хематопоетске матичне ћелије (*Hematopoietic stem cells, HSCs*). Ове ћелије имају способност самообнављања и диференцирања у дviјe врсте мултипotentних ћелија, мијелоидне и лимфоидне. Њиховом диобом могу настати мултипotentне ћелије или диференциране унипotentне матичне ћелије које ће даљом диобом и диференцијацијом дати морфолошки препознатљиве ћелије једне лозе [1, 7-9].

Хематопоетски систем током пренаталног развоја има дviјe важне функције: да брзо генерише зреле крвне ћелије неопходне за раст и развој фетуса и да успостави резервоар хематопоетских матичних ћелија потребних за постнатални живот [1, 8, 10].

Хематопоеза у постельици започиње касније у односу на друга хематопоетска мјеста (жумањчана врећа, јетра и слезена). Постельица (и мајчин и фетални дио) осигуруја микросредину која омогућава пролиферацију матичне ћелије, а у исто вријеме спречава њену прерану диференцијацију у различите ћелијске линије [11, 12]. Мајчин дио постельице синтетише интерлеукин 3 (*IL3*), док феталне мезенхималне матичне ћелије продукују интерлеукин 6 (*IL-6*), хемотактички фактор стромалних ћелија (*Chemotactic factor stromal cell-derived factor-1, SDF-1*) и стимулишући фактор раста макрофага

(Macrophage Colony-Stimulating Factor, M-CSF)[13-15]. Лабиринтна васкулатура постельице обезбеђује нишу за дефинитивно стварање и ширење HSCs, а представља и привремену екстраембрионалну хематопоетску нишу коју насељавају ћелије настале на анатомски различитим мјестима током различитих стадијума (таласа) хематопоезе [16,17]. Први талас хематопоезе започиње екстраембрионално, у крвотоку жуманчане кесе, при чему се прво генеришу примитивне ћелије црвени крвни лозе, макрофази и ријетки мегакариоцити. Примитивна хематопоеза нема лимбоидни потенцијал, као ни потенцијал за стварање гранулоцита [18,19]. Други талас хематопоезе који се још назива и дефинитивна хематопоеза независна од HSCs такође започиње у жуманчаној кеси и током овог таласа стварају се лимбо-мијелоидне прогениторе и еритро-мијелоидне прогениторне ћелије које касније миграју у феталну јетру. Овај талас заслужна је за преживљавање ембриона у средњем гестационом добу. Током трећег таласа хематопоезе долази до стварања HSCs у аортно-гонадалном мезонефросном региону (АГМ), прво у дорзалној аорти АГМ региона, а потом и у великим артеријским крвним судовима као што су вителусне и умбиликалне артерије и у мезенхиму хорионске плоче постельице, одакле путем циркулације долазе до јетре, постельице, слезене и коштане сржи. Током овог таласа HSCs настају од хематогених ендотелних ћелија процесом трансдиференцијације ендотелних ћелија у хематопоетске. Када ендотелне ћелије стекну хематогени потенцијал оне се у виду пупољка одвајају од зида аорте и доспијевају у њен лumen, одакле се путем циркулације разносе и насељавају друге нише. На овај начин настају примитивне HSCs и хематопоетске прогениторске ћелије. Осим постельице, привремене (интермедијарне) нише HSCs у трећем таласу код хуманих ембриона и фетуса су јетра, слезена, тимус и кожа. Хематопоетске матичне ћелије у постельици се могу диференцирати у ћелије мијелоидне и еритроидне лозе, гранулоците и макрофаге. С обзиром на то да HSCs показују морфологију малог лимбоцита, технике детекције и идентификације HSCs у хуманом ткиву зависе од детекције површинских маркера и кластера диференцијације (*Cluster of Differentiation, CD*) које ове ћелије експримирају на својој површини. [11, 13, 20-22].

Прве HSCs присутне су у хориону и хорионским ресицама постельице након девете недеље гестације [23]. Највећи изазов је био разликовање HSCs које су примарно настале у постельици (аутохтоне HSCs) од HSCs које су циркулацијом дошле у постельицу. Испитивањем на *Runx1-lacZ* и *Runx1<sup>+/−</sup> knockout* мишевима код којих је искључена срчана активност и одсустан доток крви у постельици, идентификована је популација *CD41* имунореактивних (*CD41<sup>+</sup>*)HSCs. На овај начин је још једном потврђено да постельица није само резервоар HSCs него и мјесто њиховог настанка [24,25].

Аутохтоне HSCs стварају се у хорионској плочи постельице између 15. и 24. недеље гестације и нису присутне у амниону. Хематопоеза се одиграва у постельици све до 24. недеље пренаталног развоја. Већина аутохтоних HSCs *CD34* имунореактивних ћелија и *CD45* слабо имунореактивних ћелија (*CD45<sup>low</sup>*) су смјештене у хориону, уроњене у виментин позитивне ћелије, док је мањи број локализован у лумену крвних судова и око њих. Истовремено са развојем аутохтоних HSCs, развијају се и ћелије строме које граде њихову нишу и потпомажу њихов раст и умножавање. Те ћелије су сличне перицитима и експримирају њима сличне рецепторе (*CD146, NG2* и а глаткомишићни актин). Популација *CD34<sup>+</sup>* и *CD45<sup>low</sup>* аутохтоних ћелија има сличан фенотипски профил маркера са еквивалентном интраембрионалном популацијом HSCs ћелија у феталној јетри и коштаној сржи (*CD133<sup>+</sup>; CD117<sup>+</sup>; CD4<sup>+</sup>; CD33<sup>+</sup>; CD13<sup>+</sup>; CD95<sup>+</sup> и HLA-DR<sup>+</sup>*). За разлику од њих, *CD34<sup>+</sup> CD45<sup>low</sup>* аутохтоне ћелије присутне у постельици показују јединствене фенотипске особине које се одликују експресијом β1-интегрина и ниског нивоа експресије *CD38*. У постельици током сва три триместра присутне су све хематопоетске линије настале диференцијацијом HSCs [26].

С обзиром да трофобластне ћелије успостављају васкуларну мрежу између мајке и фетуса, продукују хормоне неопходне за одржавање и напредовање гестације, поремећаји у хематопоези и вакулогенези унутар постельице, могу довести до озбиљних патолошких стања као што су преекламзија и интраутерини застој раста плода [2,27].

Поред ове физиолошке улоге постельице у пренаталној хематопоези, било би изузетно важно развити употребу постельичних *HSCs* у третману хематоонколошких стања и урођених хематолошких поремећаја. Тренутно, *HSCs* које се користе за лијечење наведених стања су поријеклом из коштане сржи и крви пупчаника донора (умбиликални трансплантат). Међутим, један од најчешћих проблема са којим се сусрећу у овој области је недостатак донора. Кориштење крви из пупчаника донекле је помогло у рјешавању проблема због веће доступности, мање учсталости реакције калем против домаћина и чињенице да није потребна изражена *HLA* подударност донора и реципијента. Међутим, највећи недостатак је мали број матичних ћелија у једној јединици умбиликалног трансплантата. Сматрамо да би употреба *HSCs* из постельице могла помоћи у превазилажењу наведених проблема. Предности постельице су доступност и велика површина, захваљујући којој би се могла обезбиједити већа количина матичних ћелија у односу на крв из пупчаника [28].

Литература:

1. Nikolić I, Rančić G, Radenković G, Lačković V, Todorović V, Mitić D, Mihailović D. *Embriologija čoveka. Data Status*, Beograd, 2018.
2. Carrasco-Wong I, Moller A, Giachini FT, Lima VV, Toledo F, Stojanova J, et al. Placental structure in gestational diabetes mellitus. *Biochim Biophys Acta Mol Basis Dis*. 2020; 1866(2):165535.
3. Robin C, Bollerot K, Mendes S, Haak E, Crisan M, Cerisoli F, Lauw I, et al. Human placenta is a potent hematopoietic niche containing hematopoietic stem and progenitor cells throughout development. *Cell Stem Cell*. 2009;5 (4):385-95.
4. Dieterlen-Liévre F, Corbel C, Salaün J. Allantois and placenta as developmental sources of hematopoietic stem cells. *Int J Dev Biol*. 2010;54(6-7):1079-87.
5. Challier JC, Galtier M, Cortez A, Bintein T, Rabreau M, Uzan S. Immunocytological evidence for hematopoiesis in the early human placenta. *Placenta* 2005 Apr;26(4):282-8.
6. Gekas C, Rhodes KE, Van Handel B, Chhabra A, Ueno M, Mikkola HK. Hematopoietic stem cell development in the placenta. *Int J Dev Biol*. 2010;54(6-7):1089-98.
7. Fidanza A, Forrester LM. Progress in the production of haematopoietic stem and progenitor cells from human pluripotent stem cells. *J Immunol Regen Med*. 2021 Aug;13:100050.
8. Belyavsky A, Petinati N, Drize N. Hematopoiesis during Ontogenesis, Adult Life, and Aging. *Int J Mol Sci*. 2021 Aug 26;22(17):9231.
9. Ivanovs A, Rybtsov S, Ng ES, Stanley EG, Elefanti AG, Medvinsky A. Human haematopoietic stem cell development: from the embryo to the dish. *Development*. 2017;144(13):2323-2337.

10. Gao X, Xu C, Asad N, Frenette PS. *The hematopoietic stem cell niche: from embryo to adult*. Development. 2018; 145 (2):dev139691.
11. Dzierzak E, Robin C. *Placenta as a source of hematopoietic stem cells*. Trends Mol Med. 2010;16(8):361-7.
12. Van Handel B, Prashad SL, Hassanzadeh-Kiabi N, Huang A, Magnusson M, Atanassova B, et al. *The first trimester human placenta is a site for terminal maturation of primitive erythroid cells*. Blood. 2010;116(17):3321-30.
13. Serikov V, Hounshell C, Larkin S, Green W, Ikeda H, Walters MC, et al. *Human term placenta as a source of hematopoietic cells*. Exp Biol Med (Maywood). 2009;234(7):813-23.
14. Khodadi E, Shahrabi S, Shahjahani M, Azandeh S, Saki N. *Role of stem cell factor in the placental niche*. Cell Tissue Res. 2016 Dec;366(3):523-531.
15. Horton PD, Dumbali SP, Bhanu KR, Diaz MF, Wenzel PL. *Biomechanical Regulation of Hematopoietic Stem Cell in the Developing Embryo*. Curr Tissue Microenviron Rep. 2021;2(1):1-15.
16. Home P, Ghosh A, Kumar R, Ganguly A, Bhattacharya B, Islam R, at all. *Trophoblast paracrine signaling regulates placental hematoendothelial niche*. bioRxiv840660. 2019.
17. Vladićić J, Nikolić I, Todorović V, Jović M, Petrović V, Mašić S, et al. *Numerička arealna gusto CD34 i CD117 imunoreaktivnih hematopoetskih ćelija u jetri humanog embriona i fetusa*. Biomedicinska istraživanja 2019;10(2):111- 117.
18. Demirci S, Leonard A, Tisdale JF. *Hematopoietic stem cells from pluripotent stem cells: Clinical potential, challenges, and future perspectives*. Stem Cells Transl Med. 2020;(12):1549-1557.
19. Kumar A, D'Souza SS, Thakur AS. *Understanding the Journey of Human Hematopoietic Stem Cell Development*. Stem Cells Int. 2019;2141475.
20. Parant O, Dubernard G, Challier JC, Oster M, Uzan S, Aractingi S, Khosrotehrani K. *CD34+ cells in maternal placental blood are mainly fetal in origin and express endothelial markers*. Lab Invest. 2009 Aug;89(8):915-23.
21. Khodadi E, Shahrabi S, Shahjahani M, Azandeh S, Saki N. *Role of stem cell factor in the placental niche*. Cell Tissue Res. 2016 Dec;366(3):523-531.
22. Aplin JD, Whittaker H, Jana Lim YT, Swietlik S, Charnock J, Jones CJ. *Hemangioblastic foci in human first trimester placenta: Distribution and gestational profile*. Placenta. 2015 Oct;36(10):1069.
23. Muench MO, Kapidzic M, Gormley M, Gutierrez AG, Ponder KL, Fomin ME, et al. *The human chorion contains definitive hematopoietic stem cells from the fifteenth week of gestation*. Development. 2017;144(8):1399-1411.
24. Soares-da-Silva F, Peixoto M, Cumano A, Pinto-do-Ó P. *Crosstalk Between the Hepatic*

*and Hematopoietic Systems During Embryonic Development. Front Cell Dev Biol. 2020 Jul 22;8:612.*

25. Rhodes KE, Gekas C, Wang Y, Lux CT, Francis CS, Chan DN, et al. The emergence of hematopoietic stem cells is initiated in the placental vasculature in the absence of circulation. *Cell Stem Cell.* 2008;2(3):252-63.
26. Kuchma MD, Kyryk VM, Svitina HM, Shablii YM, Lukash LL, Lobynseva GS, et al. Comparative Analysis of the Hematopoietic Progenitor Cells from Placenta, Cord Blood, and Fetal Liver, Based on Their Immunophenotype. *Biomed Res Int.* 2015;2015:418752.
27. Ponder KL, Bárcena A, Bos FL, Gormley M, Zhou Y, Ona K, et al. Preeclampsia and Inflammatory Preterm Labor Alter the Human Placental Hematopoietic Niche. *Reprod Sci.* 2016 Sep;23(9):1179-92.
28. Frame JM, Fegan KH, Conway SJ, McGrath KE, Palis J. Definitive Hematopoiesis in the Yolk Sac Emerges from Wnt-Responsive Hemogenic Endothelium Independently of Circulation and Arterial Identity. *Stem Cells.* 2016;34(2):431-44.

Избор литературе је одговарајући?

ДА

НЕ

#### IV.4 Циљеви истраживања

Главни циљ:

1. Идентификовати и квантifikовати различите имунохистохемијске профиле (субпопулација) HSCs у хуманим постельицама различите гестациске старости.

Подциљеви су:

1. Описати хистолошке карактеристике хумане постельице различите гестациске старости.
2. Описати топографске, морфолошке и имунохистохемијске карактеристике HSCs.
3. Одредити нумеричку ареалну густину различитих имунохистохемијских профиле (субпопулација) HSCs у постельицама различите гестациске старости.

Циљеви истраживања су одговарајући?

ДА

НЕ

#### IV.5 Хипотезе истраживања: главна и помоћне хипотезе

Ткиво хумане постельице представља значајан извор различитих имунохистохемијских профиле хематопоетских матичних ћелија.

Ткиво хумане постельице првог триместра садржи значајан већи број различитих имунохистохемијских профиле хематопоетских матичних ћелија од хумане постельице другог и трећег триместра.

Хипотезе истраживања су јасно дефинисане?

ДА

НЕ

#### IV.6 Очекивани резултати хипотезе

Осим великог значаја у теоријском доприносу у проучавању области пренаталне хематопоезе у постельици којима ће се употребнити и систематизовати досадашња сазнања из наведене области, дефинисањем субпопулација хематопоетских ћелијских линија у постельици пронашли би се нови извори хематопоетских матичних ћелија које би се могле употребити у лијечењу хематоонколошких стања или урођених хематолошких болести

Очекивани резултати представљају значајан научни допринос? ДА НЕ

#### IV.7 План рада и временска динамика

##### Прва фаза (у трајању до годину дана)

Прва фаза истраживања обухвата одабир донора, прикупљање и обраду узорака. У складу са статистичким подацима о броју ванматеричних трудноћа и медицински индикованих побачаја из претходних година за узорковање постельица првог и другог триместра очекујемо да ће бити потребан период до годину дана. С обзиром на то да су постельице трећег триместра свакодневно доступан материјал, прво ће се прикупити ова група узорака. Након детаљног прегледа постельице и увида у информациони систем Универзитетског клиничког центра (КИС), у складу са наведеним критеријумима у поглављу Материјал и метод рада, одлучићемо да ли је добијени материјал адекватан за истраживање. Узорковање материјала вршиће се у просторијама хируршке сале или рађаоне Универзитетског клиничког центра Републике Српске (УКЦ РС), а обрада материјала у Центру за биомедицинска исраживања Медицинског факултета, Универзитета у Бањој Луци, а на начин описан у горе наведеном поглављу, изузев постельица првог триместра, код којих ће се узорковање и обрада материјала до парафинског блока, због величине узорка, обавити у Заводу за патологију УКЦ РС. Затим ће се приступити обради препарата за свјетлосну микроскопију и класичном бојењу са хематоксилином и еозином, како би се одабрали препарати који ће даље бити укључени у истраживање.

##### Друга фаза (у трајању до шест мјесеци)

Друга фаза истраживања обухвата имунохистохемијско бојење, идентификацију и квантификацију ћелија и статистичку анализу добијених података.

Након што се сви прикупљени узорци укалује у парафинске блокове приступиће се обради препарата за свјетлосну микроскопију и имунохистохемијском бојењу са горе наведеним антитијелима, затим слиједи идентификација и квантификација циљаних ћелија на добијеним ткивним резовима на начин описан у поглављу Материјал и метод рада. А након статистичке обраде података, предвиђена је публикација добијених резултата

План рада и временска динамика су одговарајући?

ДА

НЕ

## IV.8 Метод и узорак истраживања

### Избор и прикупљање материјала

Узорци за испитивање (постељице) прикупљаће се у Клиници за гинекологију и акушерство и Заводу за патологију Универзитетског клиничког центра Републике Српске (УКЦ РС), а након прибављања сагласности надлежног Етичког комитета и Информисаног пристанка донора (труднице/породиље). У истраживање ће се укључити материјал узоркован са тридесет постељица. Постељице ће бити разврстане на три групе према триместрима трудноће. Прву групу чиниће постељице гестацијске старости до 12. недјеље, другу групу од 13. до 25. недјеље и трећа група од 26. до 41. недјеље. Истраживањем ће бити обухваћене постељице фетуса оба пола.

Постељице првог триместра ће се узорковати након медицински индикованих оперативних захвата ектопичне трудноће, односно након салпингектомије.

Постељице гестацијске старости од 13. до 20. недјеље узорковаће се након медицински индикованих прекида трудноће, а постељице старости од 21. до 41. недјеље гестације након вагиналног или оперативно завршеног порода.

Увидом у информациони систем Универзитетског клиничког центра (КИС) добићемо податке о здравственом стању труднице, току трудноће као и гестацијској старости, и на основу тих података одлучити које постељице можемо укључити у истраживање.

Критеријуми за укључивање:

1. постељице здравих трудница,
2. постељице без макроскопски видљивих оштећења,
3. постељице без знакова запаљења,
4. постељице које нису прекривене, односно запрљане меконијем.

Због потенцијалних утицаја на морфолошку грађу постељице у истраживање нећемо укључити постељице трудница/породиља:

1. које су током трудноће користиле било којих антихипертензивни лијек,
2. обольелих од дијабетеса тип I и II,
3. обольелих од гестационог дијабетеса,
4. код којих је током трудноће верификована инфекција *HPV*, *CMV*, *EB* и *Rubeola* вирусом.

Поред горе наведених критеријума за укључивање и не укључивање у истраживање, након обраде добијеног материјала, на класично хистохемијски обојеним препаратима са хематоксилин и еозином, анализираће се грађа постељице како би одабрали препарате за истраживање према слиједећим критеријумима.

Критеријуми за искључивање препарата из истраживања су:

1. препарати који не садрже све морфолошке дијелове постељице,
2. препарати на којима се налази патолошки измјењено ткиво,

3. препарати на којима се уочи запаљенски инфильтрат,
4. препарати који не испуњавају техничке захтјеве (нпр. пребојавање ткивних структура).

Истраживање ће обухватити одабир донора, узорковање и обраду материјала, бојење препарата и квантификацију ћелија.

#### Узорковање материјала

Узорци ће се узимати у стерилним условима гинеколошке хируршке сале или рађаоне. За прву групу узорака потребно је да се након салпингектомије, одстрањени дио јајвода одложи у обиљежени стерилни контејнер са 4% формалдехидом у омјеру 1:10. Након патохистолошке верификације ектопичне трудноће у Заводу за патологију, узорци ће се транспортовати до Центра за биомедицинска истраживања Медицинског факултета.

За другу и трећу групу узорака, са истих локација узимаће се ткивни исјечци површине 5x5 mm и пуне дебљине постельице, односно од хорионске до базалне плоче. Након порођаја постельица ће се ставити у стерилни контејнер пречника 30 cm. Како би се изbjегло или смањило прекривање постельице коагулисаним крви, пупчаник ће се стегнути пеаном, а већ присутна коагулисана крв механчки одстранити са постельице, након чега ће се испрати физиолошким раствором. Ткивни исјечци ће се одложити у обиљежене контејнере испуњене са 4% формалдехидом у омјеру 1:10 и транспортовати у наведену установу. Преостали дио постельице ће се одложити на прописан начин у УКЦ РС, а у складу са Правилником о категоријама, испитивању и класификацији отпада ("Службени гласник Републике Српске", број: 19/15) и Правилником о управљању медицинским отпадом ("Службени гласник Републике Српске", број: 90/06).

#### Припрема материјала за свјетлосну микроскопију

Ткиво ће се фиксирати у 4% формалдехиду током 48 сата, након чега ће се обрада ткива наставити у ткивном процесору *Leica TP1020*, а затим слиједи калупљење у парафинске блокове. Парафински блокови ће се резати на ротационом микротому (*Rotary 3003 rmf*) на резове дебљине од 3 до 5 μm. Резови ће се потом монтирати на обична предметна стакла и на *Menzel-Glaser superfrost plus* стакла која су намијењена за имунохистохемијско бојење. Потом ће се резови сушити у термостату, један сат на температури од 60 °C.

#### *Класично хистохемијско бојење са хематоксилин и еозином*

За анализирање хистолошке грађе постельице употребиће се класично (рутинско) бојење са хематоксилином и еозином, а процедура бојења вршиће се у аутоматском систему за бојење (*Myreva*).

#### *Имунохистохемијска бојења*

За идентификацију појединих субтипова *HSCs* користиће се следећи маркери: *CD34* антиген (*HSCs*, ране прогениторне хематопоетске ћелије и ендотелене ћелије), *CD38* антиген (*HSCs*, Т, Б лимфоцити и ћелије природних убица (*Natural Killer cell, NK cell*)), *CD45* антиген (све хематопоетске ћелије осим зрелих ериторцита, мултипотентни хематопоетски прогенитори), *CD41* антиген или *α 2b-integrin* (*HSCs*, тромбоцити и мегакариоцити), *CD117(c-kit)* (*HSCs*).

За идентификацију *HSCs* у постельици користићемо антитијела за горе наведене антигене у препорученим разблажењима.

За имунохистохемијско бојење потребно је да се ткивни резови рехидрирају провлачењем кроз низ алкохола опадајуће концентрације (100, 96 и 70%), након чега ће се ткивни резови уронити у дестиловану воду. Опоравак антигена вршиће се у цитратном пуферу (*pH*

6) на температури од 98 степени током 20 минута у ПТ модулу (*Thermo scinetific*). Даља процедура бојења која обухвата инкубацију ткивних резова са 3% водоник пероксидом, инкубација са примарним антитијелом препорученог разблажења, секундарним антитијелом и *Dab* хромогеном, вршиће се помоћу *Thermo scinetific* система за бојење. За контрастно бојење користићемо Мајеров хематоксилин, а након рехидратације у ксилолу ткивни резови монтираће се Канада балзамом. У свим имунохистохемијским бојењима користиће се одговарајућа позитивна и негативна контрола за наведена антитијела.

#### Квантификација

Ткивни резови ће се анализирати помоћу *Leica DM 6000* бинокуларног свјетлосног микроскопа и фотографисати са *Leica DFC310 FX* камером. Од једног узорка добиће се 60 ткивних резова, на којима ће се анализирати најмање пет одабраних видних поља на увећању од 400. Заступљеност *HSCs* квантификати ће се примјеном морфометријске анализе, одређивањем нумеричке ареалне густине помоћу *ImageJv. 1.48v (Wayne Rasband, National Institute of Health, USA)*, која приказује број испитиваних структура постельице по јединици површине ткива постельице, израженој у квадратним милиметрима. Број испитиваних видних поља ( $N$ ), одредиће се по формулама  $N=(20xSD/X)2$ , где  $SD$  представља стандардну девијацију, а  $X$  представља средњу вриједност резултата добијених у пилот студији на 20 видних поља (*Kališnik M, 2002*). Нумеричка ареална густина ( $NA$ ) израчунаће се као количник броја испитиваних структура или ћелија ( $N$ ) са површином видног поља ( $A$ ):  $NA=N/A$ . Добијени резултати се множе са 100 и изражавају у процентима.

Метод и узорак су одговарајући?

ДА

НЕ

#### **IV.9 Мјесто, лабораторија и опрема за експериментални рад**

Центар за биомедицинска истраживања Медицинског факултета Универзитета у Бањалуци, лабораторија за хистологију и биологију ћелије и Катедра за хистологију и ембриологију Медицинског факултета Универзитета у Бањалуци

Услови за експериментали рад су одговарајући?

ДА

НЕ

#### **IV.10 Методе обраде података**

За статистичку обраду резултата употребиће се методе дескриптивне статистике (средња вриједност, стандардна грешка, стандардна девијација и варијанса). За тестирање разлика између група у случају нормалне расподјеле података употребиће се параметарски тестови односно њихови непараметарски пандеми у случају неправилне расподјеле података. У свим анализама ниво значајности уочених разлика односно повезаности биће на нивоу вјероватноће  $p=0.05$ . Статистичка анализа добијених података вршиће се помоћу *IBM SPSS Statistics 20*

Предложене методе су одговарајући?

ДА

НЕ

## В ЗАКЉУЧАК

Кандидат је подобан	ДА	НЕ
Тема је подобна	ДА	НЕ

Образложение (до 500 карактера):

На основу података о кандидату и разматрања образложења теме, Комисија сматра да кандидат Сања Јовићић својим радом и постигнутим резултатима показује да је подобна за израду докторске дисертације.

Предложена тема докторске дисертације „Хематопоетске матичне ћелије хумане постельице у различитим периодима развоја – имунохистохемијско и морфометријско истраживање” је научно заснована, савремена, са примјеном најсензитивнијих имунохистохемијских и морфометричких метода, те представља оригинално истраживање у области медицинских наука.

На основу изњетих чињеница, Комисија, са посебним задовољством, *дају позитивну оцену о подобности теме, кандидата, ментора и коментора* за израду докторске дисертације под називом „Хематопоетске матичне ћелије хумане постельице у различитим периодима развоја – имунохистохемијско и морфометријско истраживање“.

Датум: новембар, 2021. године

Проф. др Радослав Гајанин, редовни професор,  
ужа научна област патологија, Медицински  
факултет, Универзитет у Бањој Луци;  
Предсједник комисије

Проф. др Владимир Петровић, ванредни  
професор, ужа научна област хистологија и  
ембриологија, Медицински факултет,  
Универзитет у Нишу; члан

Доц. др Марко Јовић, доцент, ужа научна  
област хистологија и ембриологија,  
Медицински факултет, Универзитет у Нишу;  
члан