

НАСТАВНО НАУЧНОМ ВЕЋУ МЕДИЦИНСКОГ ФАКУЛТЕТА УНИВЕРЗИТЕТА У БЕОГРАДУ

Извештај о оцени научне заснованости теме докторске дисертације

„АНАЛИЗА ЕКСПРЕСИЈЕ ДИВАЛЕНТНОГ МЕТАЛНОГ ТРАНСПОРТЕРА 1 И ФЕРОПОРТИНА 1 У ИНТЕСТИНАЛНОЈ СЛУЗОКОЖИ ПЕДИЈАТРИЈСКИХ ПАЦИЈЕНАТА СА КРОНОВОМ БОЛЕШЋУ”

Кандидат: Др Дуња Путниковић

Одлуком Наставно научног већа Медицинског факултета у Београду од 08.06.2026. године, под бројем: **7/XVII-2/1-ДП** именована је Комисија за оцenu научне заснованости теме докторске дисертације “Анализа експресије дивалентног металног транспортера 1 и феропортина 1 у интестиналној слузокожи педијатријских пацијената са Кроновом болешћу” кандидата др Дуње Путниковић, у саставу:

Име и презиме члана комисије	Звање	Научна област	Установа у којој је запослен
др Милица Лабудовић Боровић	Професор	хистологија и ембриологија	МФУБ
др Предраг Родић	Доцент	педијатрија	МФУБ
др Сара Николић	Доцент	гастроентерологија	МФ Универзитета у Марибору, Словенија

Име и презиме ментора	Звање	Научна област	Установа у којој је запослен
др Радмила Јанковић	Професор	патологија	МФУБ

На основу анализе приложене документације у вези са темом предложене докторске дисертације, након разговора са кандидатом, а према критеријумима за процену научне заснованости теме докторске дисертације, чланови Комисије подносе Наставно научном већу Медицинског факултета у Београду следећи

ИЗВЕШТАЈ

А. Подаци о кандидату:

Др Дуња Путниковић рођена је 21.10.1998. године у Београду. Завршила је Десету гимназију “Михајло Пупин” 2017. године, након чега је уписала Медицински факултет Универзитета у Београду. Дипломирала је у јуну 2023. године са просечном оценом 9,33. Докторске академске студије уписала је у октобру 2023. године на модулу Патолошке основе болести. Након положеног државног испита запослила се као истраживач-приправник у склопу пројекта Министарства науке, технолошког развоја и иновација на Медицинском факултету Универзитета у Београду. У октобру 2024. године уписала је волонтерску специјализацију из анестезиологије, реаниматологије и интензивне терапије.

Б. Списак публикованих радова кандидата објављених у целини

1. **Putniković D**, Jevtić J, Ristić N, Milovanovich ID, Đuknić M, Radusinović M, Popovac N, Đorđić I, Leković Z, Janković R. Pediatric Crohn's Disease in the Upper Gastrointestinal Tract: Clinical, Laboratory, Endoscopic, and Histopathological Analysis. *Diagnostics* (Basel). 2024;14(9):877.
2. Jankovic R, Sindić-Antunović S, Đuknić M, Vujović D, Ristić N, Jevtić T, Topličić Đ, Backović M, Zdujić N, **Putniković D**, Lukač M. Histopathological findings in enteric nervous plexuses in children with intestinal mobility disorders – a single center experience; *Medicinska istraživanja* 2024;57(3):35-40.
3. **Putniković D**, Pančurov A, Radojević M, Cerovac N. Ispitivanje povezanosti polimorfizma u genu za interleukin 6 sa nastankom cerebralne paralize kod dece sa hipokrično-ishemijskom encefalopatijom na rođenju. *MedPodml* 2024;75(1):68-72.
4. Pančurov A, **Putniković D**, Dragašević Mišković N. Socijalna kognicija u bolesnika sa Parkinsonovom bolešću i poremećajima kontrole impulsa. *MedPodml* 2024;75(1):55-60.
5. Radojević M, Pjevčević K, **Putniković D**, Jevtić J, Simić Lj. Učestalost anomalija skeleta u fetalnim i neonatalnim obdukcijama. *MedPodml* 2021;72(4):27-33.

Ц. ОБРАЗЛОЖЕЊЕ ТЕМЕ:

1. НАУЧНА ОБЛАСТ:

МЕДИЦИНА (ужа научна област: патологија)

2. ПРЕДМЕТ РАДА:

Предмет рада ће бити анализа експресије транспортера за гвожђе, дивалентног металног транспортера 1 (ДМТ1) и феропортина 1 (ФПН1), у интестиналној слузокожи педијатријских пацијената са Кроновом болешћу. Испитиваће се повезаност промене у експресији наведених транспортера са појавом анемијског синдрома, као и са ендоскопским, лабораторијским и клиничким параметрима испитиваних пацијената. Вршиће се поређење испитивачке са контролном групом као и са контролним прегледом учињеним годину дана касније.

3. ЦИЉ ИСТРАЖИВАЊА:

1. Анализа експресије мембранских транспортера гвожђа, дивалентног металног транспортера 1 и феропортина 1, у интестиналној слузокожи дуоденума и терминалног илеума педијатријских пацијената са Кроновом болешћу у поређењу са контролном групом.
2. Поређење експресије мембранских транспортера гвожђа ДМТ1 и ФПН1 у слузокожи дуоденума и терминалног илеума између иницијалног и контролног прегледа.
3. Утврђивање повезаности између промене експресије ДМТ1 и ФПН1 и клиничких, ендоскопских и лабораторијских показатеља сидеропенијске анемије.

4. ХИПОТЕЗЕ ИСТРАЖИВАЊА:

Пацијенти са Кроновом болешћу имају измењену експресију транспортера гвожђа ДМТ1 и ФПН1 у интестиналној слузокожи, што доприноси поремећеном транспорту гвожђа, погоршању сидеропенијске анемије и поремећају хомеостазе метаболизма гвожђа у организму.

5. МЕТОДЕ ИСТРАЖИВАЊА:

Дизајн студије је ретроспективна кохортна студија. Из архиве Института за патологију „Проф. др Ђорђе Јоанновић“ Медицинског факултета Универзитета у Београду издвојиће се парафински калупи и рутински сечени и обојени хистопатолошки препарати обојени хематоксилин-еозин методом пацијената који припадају студијској и контролној групи (одобрење управника Института за патологију заведено је под бројем 02-260/25). Истраживање ће укључивати педијатријске пацијенте лечене на Универзитетској дечјој клиници у Београду чије су биопсије гастроинтестиналног тракта обрађене на Институту за патологију „Проф. др Ђорђе Јоанновић“ у периоду од 1.1.2019. до 31.12.2025. године. Постављени су следећи критеријуми за укључивање у студијску групу: дијагностикована Кронова болест на основу одговарајућих клиничких, ендоскопских и хистопатолошких критеријума, педијатријски пацијенти узраста мањег од 18 година, доступна биопсија дуоденума и терминалног илеума из исте хоспитализације и лабораторијски подаци (хемоглобин, хематокрит, број еритроцита, серумско гвожђе, феритин). Критеријуми за искључивање из студије биће: присуство других инфламаторних, аутоимуних и малигних болести гастроинтестиналног тракта, недостатак адекватног биопсијског материјала, неадекватни или непотпуни клинички и лабораторијски подаци, терапија препаратима гвожђа или трансфузије у периоду крајем од три месеца пре узорковања. Контролну групу ће чинити пацијенти којима је из других разлога урађена ендоскопија дигестивног тракта са биопсијом, при чему није утврђено присуство инфламаторне болести црева или других инфламаторних или аутоимуних болести, уз уредан хистопатолошки налаз у слузници црева, са доступном биопсијом дуоденума и терминалног илеума и који у тренутку прегледа нису имали лабораторијске знаке анемијског синдрома. Из медицинске документације Универзитетске дечје клинике у Београду (број дозволе Етичког одбора Универзитетске дечје клинике 017-16/224) биће прикупљени демографски (пол и узраст), клинички (симптоми и знаци болести), лабораторијски (крвна слика, биохемијске анализе: глукоза, уреа, креатинин, *AST*, *ALT*, алкална фосфатаза, *GGT*, билирубин, албумин, *CRP*, хемоглобин, хематокрит, број еритроцита, серумско гвожђе, феритин, сатурација трансферина, *TIBC*, трансферин, витамин B12, фолати), ендоскопски и хистопатолошки подаци из исте хоспитализације када је начињен ендоскопски преглед дигестивног тракта. Поредиће се хистопатолошки налаз иницијалног са контролним прегледом начињеног годину дана касније. У циљу утврђивања експресије ДМТ1 и ФПН1 у интестиналној слузокожи, биће спроведена имунохистохемијска бојења на исечцима слузнице дуоденума и терминалног илеума у лабораторији Института за патологију. Са сваког одабраног парафинског калупа сећи ће се пресеци дебљине 4 до 5 μm . Након депарафинизације и антигенског демаскирања, учиниће се блокирање неспецифичног везивања. Затим ће се вршити обележавање примарним антителом исечака на ДМТ1 (*Proteintech*, 20507-1-AP) и ФПН1 (*Elabscience*, E-AB-17960) уз употребу одговарајућих китова за детекцију. За детекцију бојења користиће се *DAB* супстрат док се не појави смеђа боја на местима експресије транспортера. За контрастирање биће коришћен хематоксилин. Имунохистохемијско бојење ће бити спроведено мануелно, у складу са упутствима произвођача за свако антитело посебно. Визуализација позитивног бојења заснива се на примени стрептавидин-биотин технике, а интензитет бојења зависи од количине транспортера у узорку. ДМТ1 је мембрански транспортер који је локализован на апикалној, док је феропортин експримиран на базолатералној мембрани ентероцита. За позитивну контролу користиће се пресеци јетре инкубирани са примарним анти-ДМТ1 и анти-ФПН1 антителом, док ће негативна контрола бити изведена изостављањем примарног антитела.

Квантификација ће се обавити визуелном техником (микроскопијом под великим увећањем ($\times 400$) оцењиваће се присуство боје и њена локализација) и морфометријском техником (анализа слика биће извршена у програму *ImageJ* - бесплатан софтвер доступан на линку <http://imagej.nih.gov/ij/>). Анализираће се од 2 до 10 одабраних поља са највећим бројем позитивно обојених ћелија. Након селекције сигнала у спектру боје одговарајућег хромогена, издвојиће се позитивни сигнали, а затим ће се одредити проценат површине видног поља са позитивном имунохистохемијском реакцијом. Као резултат анализе израчунаће се средња вредност процента позитивне површине за сва анализирана видна поља.

Потребна минимална величина узорка за детекцију величине ефекта од 0,33 у анализи варијансе са два поновљена мерења са међугрупним фактором за експресију транспортера ДМТ1 и ФПН1, за ниво статистичке значајности од 0,05, статистичку снагу од 0,9, претпостављену корелацију поновљених мерења од 0,3 и корекцију за нарушавање сферичности од 1, износи 36 испитаника. Величина ефекта добијена је на основу претпостављених односа вредности објашњене и резидуалне варијансе од 0,1 према 0,9. Израчунати минимални број испитаника (36) повећан је за 20% због очекиваног губитка података током трајања студије (недостајући или неприменљиви подаци), па је коначан минимални број укупно планираних испитаника 44. Минимални број испитаника биће равномерно распоређен између испитиване и контролне групе, са приближно једнаким бројем испитаника у свакој групи.

Зависно од типа варијабли и нормалности расподеле, дескрипција података биће приказана као n (%), аритметичка средина $\pm$ стандардна девијација или медијана. Од метода за тестирање статистичких хипотеза користиће се: *t*-тест, *Mann-Whitney* тест, χ^2 тест, *Fisher*-ов тест тачне вероватноће, *Wilcoxon*-ов тест, *McNemar*-ов тест и анализа варијансе поновљених мерења са међугрупним фактором. Од метода за анализу повезаности примениће се *Pearson*-ов коефицијент линеарне корелације или *Spearman*-ов коефицијент корелације рангова. За моделовање односа зависне варијабле са потенцијалним предикторима користиће се регресиони модели. Статистичке хипотезе биће тестиране на нивоу статистичке значајности (алфа ниво) од 0,05. Резултати ће бити приказани табеларно и графички. Сви подаци биће обрађени у програмском пакету *IBM SPSS Statistics 26* (*IBM Corporation, Armonk, NY, USA*) или у програмском окружењу *R* (*R Core Team, 2025*).

6. ОЧЕКИВАНИ РЕЗУЛТАТИ:

Анемијски синдром јавља се са великом учесталошћу код педијатријских пацијената са Кроновом болешћу. Због прогресивног нарушавања целовитости интестиналне баријере и активације бројних компензаторних механизма у стању хроничне инфламације, очекујемо промењену експресију транспортера за гвожђе ДМТ1 и ФПН1 у слузокожи дуоденума и терминалног илеума.

7. НАУЧНИ ДОПРИНОС:

Анемијски синдром представља честу екстраинтестиналну манифестацију код педијатријских пацијената са инфламаторном болешћу црева која значајно нарушава квалитет живота пацијената. Ова докторска дисертација има потенцијал да допринесе разумевању комплексне патофизиологије хомеостазе гвожђа у стању хроничне инфламације која се одвија у патогенези Кронове болести. Прогресивно нарушавање целовитости интестиналне баријере, раширене скоковите лезије и активација различитих компензаторних механизма у стању хроничног запаљења и хроничног анемијског синдрома имају потенцијал да мењају експресију транспортера за гвожђе. Разумевање повезаности између промењене експресије наведених транспортних система и развоја сидеропенијске анемије допринело би развоју боље клиничке праксе за наведене болеснике. Ово укључује благовремено и прецизно постављање дијагнозе, лечење и одговарајући одабир пута примене препарата гвожђа, као и секундарну превенцију. Предложена теза може отворити пут за будућа истраживања усмерена на развој терапијских стратегија усмерених на сидеропенијску анемију код педијатријских пацијената са Кроновом болешћу и другим хроничним инфламаторним болестима, унапређујући тако квалитет живота ових пацијената и смањујући дугорочне последице повезане са хроничним дефицитом гвожђа.

8. СПИСАК КОРИШЋЕНЕ ЛИТЕРАТУРЕ:

1. Subedi S, Behrle Yardley AL.; Shapiro JM. Inflammatory Bowel Disease in Children and Adolescents. Rhode Isl. Med. J. 2022;105, 8–13.
2. Gordon H, Burisch J, Ellul P, Karminis K, Katsanos K, Allocca M, et al. ECCO Guidelines on Extraintestinal Manifestations in Inflammatory Bowel Disease. J Crohns Colitis. 2024;18(1):1-37.
3. Mahadea D, Adamczewska E, Ratajczak AE, Rychter AM, Zawada A, Eder P et al. Iron Deficiency Anemia in Inflammatory Bowel Diseases-A Narrative Review. Nutrients. 2020;13(11):4008.
4. Gomollón F, Gisbert JP. Anemia and inflammatory bowel diseases. World J Gastroenterol. 2009;15(37):4659-65
5. Fletcher A, Forbes A, Svenson N, Wayne Thomas D; A British Society for Haematology Good Practice Paper. Guideline for the laboratory diagnosis of iron deficiency in adults (excluding pregnancy) and children. Br J Haematol. 2022;196(3):523-529.
6. Nemeth E, Ganz T. Hepcidin and Iron in Health and Disease. Annu Rev Med. 2023;74:261-277.
7. Rogler G, Vavricka S. Anemia in inflammatory bowel disease: an under-estimated problem? Front Med (Lausanne). 2015;19:1:58.
8. Minor EA, Kupec JT, Nickerson AJ, Narayanan K, Rajendran VM. Increased DMT1 and FPN1 expression with enhanced iron absorption in ulcerative colitis human colon. Am J Physiol Cell Physiol. 2020;318(2):C263-C271.
9. Sukumaran A, James J, Janardhan HP, Amaladas A, Suresh LM, Danda D et al. Expression of iron-related proteins in the duodenum is up-regulated in patients with chronic inflammatory disorders. Br J Nutr. 2014;111(6):1059-68.
10. Wu W, Song Y, He C, Liu C, Wu R, Fang L, et al. Divalent metal-ion transporter 1 is decreased in intestinal epithelial cells and contributes to the anemia in inflammatory bowel disease. Sci Rep. 2015;5:16344.
11. Zhang H, Ostrowski R, Jiang D, Zhao Q, Liang Y, Che X, et al. Hepcidin Promoted Ferroptosis through Iron Metabolism which Is Associated with DMT1 Signaling Activation in Early Brain Injury following Subarachnoid Hemorrhage. Oxid Med Cell Longev. 2021;2021:9800794.
12. Su F, Yan X, Li X, Zeng B, Sun X, Huang C, et al. SLC38A1 Inhibits Ferroptosis of Alveolar Type II Epithelial Cells in Acute Lung Injury by Promoting Autophagic Degradation of Divalent Metal Transporter 1 (DMT1): an In Vivo and In Vitro Study. Inflammation. 2026;49(1):25.
13. Woloshun RR, Yu Y, Xu X, Lee JK, Zhu S, Shine JS, et al. Four AAs increase DMT1 abundance in duodenal brush-border membrane vesicles and enhance iron absorption in iron-deprived mice. Blood Adv. 2022;6(10):3011-3021.

Д. ЗАКЉУЧАК

На основу анализе приложене документације, чланови комисије сматрају да је предложена тема докторске дисертације “Анализа експресије дивалентног металног транспортера 1 и феропортина 1 у интестиналној слузокожи педијатријских пацијената са Кроновом болешћу” кандидата др Дуње Путниковић значајна и актуелна и да у потпуности испуњава услове за оригиналан научни допринос у истраживањима која се односе на разумевање патофизиолошких механизма настанка анемијског синдрома у склопу хроничних инфламаторних болести црева код педијатријских пацијената. Испитивање капацитета транспорта гвожђа може допринети благовременом препознавању и лечењу анемије и спречавању настанка компликација овог екстраинтестиналног синдрома у склопу Кроне болести.

Досадашњи стручни и научни рад кандидата др Дуње Путниковић, али и ментора, проф. др Радмиле Јанковић, као и актуелност предложене теме, представљају реалну основу да ће истраживање бити извршено компетентно и на савремен начин.

Стога, на основу целокупне анализе приложеног материјала, Комисија једногласно закључује да су, поред законских, испуњени и сви остали формални услови и на основу тога предлаже Научном већу Медицинског факултета да кандидату др Дуњи Путниковић одобри израду докторске дисертације са предложеном темом.

Комисија:

Београд, 30.06.2026. године

1. Проф. др Милица Лабудовић Боровић

2. Доц. др Предраг Родић

3. Доц. др Сара Николић