

## **НАСТАВНО-НАУЧНОМ ВЕЋУ БИОЛОШКОГ ФАКУЛТЕТА УНИВЕРЗИТЕТА У БЕОГРАДУ**

На III редовној седници Наставно-научног већа Биолошког факултета Универзитета у Београду, одржаној 15.12.2014. године, прихваћен је извештај ментора др Светозара Дамјановића, редовног професора Медицинског факултета Универзитета у Београду и др Гордане Матић, редовног професора Биолошког факултета Универзитета у Београду о урађеној докторској дисертацији **мр Јадранке А. Антић**, молекуларног биолога и физиолога у Лабораторији за генетичко испитивање при Одељењу за туморе ендокриног система и наследне канцерске синдроме, Клинике за ендокринологију, дијабетес и болести метаболизма КЦС, под насловом „**Значај полиморфизама у генима за глукокортикоидни и адренкортикотропни рецептор у настанку адреналних инциденталума**“, и одређена је Комисија за преглед и оцену докторске дисертације у саставу: др Светозар Дамјановић, редовни професор Медицинског факултета Универзитета у Београду, др Гордана Матић, редовни професор Биолошког факултета Универзитета у Београду и др Светислав Татић, редовни професор Медицинског факултета Универзитета у Београду.

Комисија је прегледала урађену докторску дисертацију кандидаткиње и Већу подноси следећи

### **ИЗВЕШТАЈ**

#### **Општи подаци о докторској дисертацији:**

Докторска дисертација **мр Јадранке А. Антић** под насловом „**Значај полиморфизама у генима за глукокортикоидни и адренкортикотропни рецептор у настанку адреналних инциденталума**” написана је на 85 страна, и подељена у 8 поглавља: **Увод** (22 стране), **Циљ рада** (1 страна), **Учесници у студији, материјал и методе** (12 страна), **Резултати** (19 страна), **Дискусија** (13 страна), **Закључци** (2 стране), **Списак цитиране литературе** (15 страна) и **Списак скраћеница коришћених у тексту** (3 стране). Рад садржи 137 литературних цитата, 19 слика, 6 табела, Садржај, Резиме на српском и енглеском језику, Биографију аутора, Прилоге 1, 2 и 3.

#### **Анализа докторске дисертације:**

У поглављу **УВОД** кандидаткиња на адекватан и систематичан начин износи најновије научне хипотезе и литературне податке који илуструју досадашња сазнања о структури гена за хумани глукокортикоидни рецептор (GR) и адренкортикотропни рецептор (ACTHR), њихову молекуларну структуру, алтернативну иницијацију транслације глукокортикоидног рецептора, његову посттранслациону модификацију, као и податке о

изоформама глюкокортикоидног рецептора, механизмима деловања глюкокортикоида (GC), досадашња сазнања о полиморфизмима оба рецептора и адреналним инциденталомима. Поглавље је написано тако да пружа свеобухватан увид у актуелно стање истраживања у овим областима. Истовремено, кандидаткиња уочава и истиче поједине научне проблеме и питања која су још увек отворена, наглашавајући на тај начин аргументе на којима се базирају истраживања обухваћена овом дисертацијом. Поглавље Увод подељено је у два одељка и деветнаест пододељака који обухватају велики број литературних података. У првом одељку кандидаткиња објашњава појам глюкокортикоидног рецептора и глюкокортикоидних хормона, а у другом одељку појам адреналнокортикотропног рецептора и адреналнокортикотропног хормона у физиолошком контексту, као и њихов значај у очувању хомеостазе у организму. Пододељци су посвећени молекуларној структури гена за оба рецептора, транслацији и посттранслационој модификацији глюкокортикоидног рецептора, до сада описаним полиморфизмима у оба рецептора и адреналним инциденталомима. Посебна пажња је посвећена полиморфизмима који су предмет ове докторске дисертације (*BclII*, *N363S*, *ER22/23EK*, *A3669G* и промоторски полиморфизам АСТHR), те су детаљно приказана најновија сазнања о њиховом физиолошком значају, могућој вези са измењеном осетљивошћу на глюкокортикоиде, променама у телесном саставу, као и резултати најновијих истраживања о њиховој повезаности са одређеним болестима.

У поглављу **ЦИЉ РАДА** јасно, концизно и на компетентан начин изнети су основни циљеви ове докторске дисертације. Као општи циљ наведено је утврђивање да ли присуство функционалних полиморфизама у генима за глюкокортикоидни рецептор и рецептор за адреналнокортикотропни хормон може утицати на повећану осетљивост за настанак унилатералних адреналних инциденталума. У ту сврху су формиране две циљне групе испитаника које су чинили пацијенти са случајно откривеним туморима коре надбубрежних жлезда и здрави добровољци. Код обе групе је утврђено евентуално присуство полиморфизама у генима за глюкокортикоидни и адреналнокортикотропни рецептор и праћени основни метаболички, биохемијски и антропометријски параметри, како би се утврдило евентуално постојање везе генотип-фенотип. Како би се стекао увид у експресију глюкокортикоидног рецептора у адреналнокортикалним аденомима, анализирани су доступни узорци туморског и перитуморског ткива, као и здравих надбубрежних жлезда.

Поглавље **УЧЕСНИЦИ У СТУДИЈИ, МАТЕРИЈАЛ И МЕТОДЕ** обухвата широк спектар експерименталних приступа и савремених техника које омогућавају добијање прецизних података и њихову поуздану интерпретацију. Сажето, али довољно информативно, описани су: изоловање ДНК, PCR метода, RFLP метода, секвенцирање ДНК, биохемијске методе, методе за одређивање метаболичких и антропометријских параметара, имунохистохемијска метода, као и методе за статистичку анализу добијених података.

У оквиру поглавља **РЕЗУЛТАТИ** кандидаткиња мр Јадранка А. Антић је јасно и прегледно изнела своје експерименталне резултате које је, руководећи се радном хипотезом и постављеним циљевима, поделила у три одвојена одељка. Први одељак се односи на дистрибуцију учесника студије у односу на клиничке карактеристике, други одељак је посвећен генотипизацији, а трећи регионалној интрацелуларној дистрибуцији глюкокортикоидног рецептора. Најважнији резултати ове докторске дисертације могу се сумирати на следећи начин:

- Није уочена статистички значајна разлика у обиму струка између пацијената и контролних субјеката, али су код пацијената биле чешће вредности обима струка веће од

88 цм код жена и веће од 102 цм код мушкараца. Они су имали и више вредности артеријског крвног притиска и гликемије, али не и НОМА-IR индекса.

- Није било значајне разлике у вредностима јутарњег кортизола међу припадницима две испитиване групе, али су у контролној групи забележене знатно ниже вредности кортизола након теста супресије дексаметазоном, у односу на групу пацијената.

- У групи пацијената је уочена позитивна корелација вредности базног кортизола и инсулина, а вредности постдексаметазонског кортизола су биле у негативној корелацији са обимом струка.

- Висина систолног и дијастолног артеријског крвног притиска је била у корелацији са вредностима ИТМ и обима струка, а вредности глукозе су биле у корелацији са вредностима базног инсулина.

- У контролној групи вредности базног кортизола су биле у корелацији са вредностима глукозе и АСТН, а концентрације постдексаметазонског кортизола у корелацији са вредностима систолног артеријског крвног притиска и старошћу испитаника. Вредности систолног и дијастолног артеријског крвног притиска су биле у корелацији са ИТМ и обимом струка.

- Уочена је значајно повећана учесталост носилаца дужег С алела *VcII* полиморфизма, као и битно повећано присуство краћег G алела *A3669G* полиморфизма у групи пацијената, у односу на контролну групу. У ДНК изолованој из туморског ткива добијени су исти генотипови као и у ДНК изолованој из леукоцита периферне крви.

- Није забележена разлика у учесталости *N363S*, *ER22/23EK* и промоторског АСТНR полиморфизма између две испитиване групе.

- Носиоци дужег С алела *VcII* полиморфизма и краћег G алела *A3669G* полиморфизма имају повећан ризик за настанак адреналних инциденталома.

- Носиоци С алела *VcII* полиморфизма су имали веће туморе надбубрежних жлезда, али је присуство G алела *A3669G* полиморфизма код одређеног броја ових испитаника умањивало ефекат С алелске варијанте *VcII* полиморфизма на величину тумора.

- Пацијенти носиоци G алела *A3669G* полиморфизма су имали ниже вредности ИТМ, глукозе и постдексаметазонског кортизола у односу на испитанике без овог алела, што указује на мању осетљивост на глукокортикоиде.

- Пацијенти код којих су истовремено били присутни дужи С алел *VcII* полиморфизма, и краћи G алел *A3669G* полиморфизма имали су значајно веће концентрације базног и постдексаметазонског кортизола, а мање вредности обима струка и ИТМ у односу на субјекте без ове комбинације полиморфизама.

- На пресецима туморског, перитуморског и здравог ткива коре надбубрежних жлезда имунохистохемијка анализа је показала смањену експресију GR $\alpha$  и GR $\beta$  изоформе у адреналним аденомима у односу на здраве надбубрежне жлезде, док је у перитуморском ткиву била само смањена експресија GR $\alpha$ .

- GR $\beta$  изоформа је на свим прегледаним препаратима имала доминантно нуклеусну локализацију, што може да говори о њеној улози у смањивању GR $\alpha$  транскрипционе активности.

У поглављу **ДИСКУСИЈА** кандидаткиња анализира и тумачи резултате свог истраживања и поткрепљује их резултатима објављеним у најновијој научној литератури. Стиче се утисак да кандидаткиња захваљујући добром познавању савремене литературе,

како из области молекулских механизма регулације деловања глукокортикоидних хормона, тако и из области ендокринологије, успева да тумачи значај уочених промена у структури и функцији глукокортикоидног рецептора код пацијената са адrenalним инциденталомима. Уочава се и да дискусија као и претходна поглавља има свој логичан ток, захваљујући добро постављеним циљевима који су у потпуности реализовани. У дискусији се такође уочава објективан и критички став кандидаткиње према сопственим резултатима, са назнакама нових експерименталних приступа који ће уследити у будућим истраживањима.

У поглављу **ЗАКЉУЧЦИ** мр Јадранка А. Антић сажето и јасно сумира најважније закључке до којих се може доћи анализирањем добијених експерименталних резултата: да је генска варијанта глукокортикоидног рецептора са присутним дужином *C* алелом *BclII* полиморфизма, и краћим *G* алелом *A3669G* полиморфизма у оквиру гена за глукокортикоидни рецептор у вези са настанком унилатералних адrenalних инциденталома, да истовремено присуство ова два алела доводи до смањене осетљивости на глукокортикоиде, што у исто време може довести до дисрегулације продукције кортизола и раста тумора, али да природна осетљивост на глукокортикоиде највероватније модификује ове ефекте, да су носиоци *C* алела *BclII* полиморфизма имали веће туморе, али да је присуство *G* алела *A3669G* полиморфизма донекле умањивало овај ефекат, да су пацијенти носиоци *G* алела *A3669G* полиморфизма због смањене осетљивости на глукокортикоиде имали ниже вредности глукозе, постдексаметазонског кортизола и ИТМ, те да је имунохистохемијска анализа показала смањену експресију *GR $\alpha$*  и *GR $\beta$*  изоформе у адреналним аденомима у односу на здраве надбубрежне жлезде, што је у сагласности са до сада познатим подацима.

На крају ове докторске дисертације налази се поглавље **СПИСАК ЦИТИРАНЕ ЛИТЕРАТУРЕ** у коме је дата опсежна листа библиографских јединица.

### **Радови и конгресна саопштења из докторске дисертације:**

#### **Б1. Радови у часописима међународног значаја**

1. Damjanović SS, **Antić JA**, Ilić BB, Čokić BB, Ivović M, Ognjanović SI, isailović TV, Popović BM, Božić IB, Tatić S, Matić G, Todorović VN, Paunović I, Glucocorticoid receptor and molecular chaperones in the pathogenesis of adrenal incidentalomas: potential role of reduced sensitivity to glucocorticoides. *Mol Med*, 2013; 18: 1456-1465. **M21**
2. Savić D, Knežević G, Damjanović S, **Antić J**, Matić G, GR gene *BclII* polymorphism changes the path, but not the level of dexamethasone-induced cortisol suppression. *J Affect Disord*, 2014; 168: 1-4. **M21**

#### **Б2. Радови у часописима домаћег значаја**

#### **Б3. Конгресна саопштења на скуповима међународног значаја**

1. **Antić J.**, Kovač T., Doknić M., Novković T., Tatic S., Macut D., Ognjanović S., Paunović I., Damjanović S., Frequency of *BclII* polymorphism in the glucocorticoid

receptor gene in patients with adrenal incidentalomas, ICE 2004, August 31 - September 5, 2004, Lisbon, Portugal. Извод из зборника међународног научног скупа, стр. 303. **M34**

2. S. S. Damjanović, **J. Antić**, S. Ognjanović, J. Vignjević, M. Petakov, D. Macut, B. Beleslin-Čokić, I. Paunović, K. Mirković, J. Nikolić, *BclI* polymorphism in the glucocorticoid receptor (GR) gene appears as a point mutation in adrenal incidentalomas, ECE 2005, 3-7 September, 2005, Gothenburg, Sweden, Извод из зборника међународног научног скупа, стр. 201. **M34**
3. S. Damjanović, **J. Antić**, B. Beleslin-Čokić, S. Ognjanović, D. Macut, M. Petakov, B. Popović, T. Isailović, I. Božić, S. Tatić, I. Paunović, Glucocorticoid receptor gene and adrenal incidentalomas, 12<sup>th</sup> International Congress on Hormonal Steroides and Hormones and Cancer, 13-16 September, 2006, Athens, Greece. Извод из зборника међународног научног скупа, стр. 184. **M34**
4. **Antić J.**, Beleslin Čokić B., Ognjanović S., Tatić S., Vignjević J., Mirković K., Nikolić J., Paunović I., Damjanović S., Frequency of three major glucocorticoid receptor gene polymorphisms in patients with adrenal incidentalomas, 9<sup>th</sup> European Congress of Endocrinology- ECE 2007, 28<sup>th</sup> April-2<sup>nd</sup> May, 2007, Budapest, Hungary. Извод из зборника међународног научног скупа-Endocrine abstracts 2007, Vol. 14. **M34**
5. **J. Antić**, S. Ognjanović, B. Beleslin Čokić, M. Petakov, D. Macut, J. Vignjević, K. Mirković, J. Nikolić, B. Popović, T. Isailović, I. Božić, S. Damjanović, Correlation between metabolic syndrome and three major glucocorticoid receptor gene polymorphisms in healthy volunteers from the community of Belgrade, 2<sup>nd</sup> International Congress on "Prediabetes" and the Metabolic Syndrome, 25-28 April, 2007, Barcelona, Spain. Извод из зборника међународног научног скупа, стр. 59. **M34**
6. S. Damjanović, **J. Antić**, B. Beleslin, S. Ognjanović, J. Vignjević, M. Petakov, D. Macut, I. Paunović, T. Isailović, B. Popović, I. Božić, Metabolic abnormalities in patients with adrenal adenomas may be associated with *BclI* polymorphism in the glucocorticoid receptor (GR) gene and expression of tumor-specific Hsp70 isoforms, 9<sup>th</sup> European Congress of Endocrinology- ECE 2007, 28<sup>th</sup> April-2<sup>nd</sup> May, 2007, Budapest, Hungary. Извод из зборника међународног научног скупа-Endocrine abstracts 2007, Vol. 14. **M32**
7. **J. Antić**, S. Ognjanović, M. Petakov, D. Macut, B. Beleslin Čokić, J. Vignjević, K. Mirković, B. Popović, T. Isailović, I. Božić & S. Damjanović, Association between *BclI*, N363S, ER22/23EK and A3669G polymorphisms of the glucocorticoid receptor gene in patients with adrenal incidentalomas and healthy volunteers and their metabolic profile, 13<sup>th</sup> International Congress on Hormonal Steroids and Hormones & Cancer, September 27-30<sup>th</sup>, 2008, Quebec City, Canada. Извод из зборника међународног научног скупа, стр. 47. **M34**
8. **Antić J.**, Ivović M., tančić gajić M, Damjanović S., Link between adrenal incidentalomas and *BclI* polymorphism of glucocorticoid receptor gene, 13<sup>th</sup> International Congress of Endocrinology, November 08-12, 2008, Rio de Janeiro, Brasil. Извод из зборника међународног научног скупа, стр. 940. **M34**

9. **J. Antić**, S. Ognjanović, M. Petakov, D. Macut, B. B. Čokić, J. Banković, K. Mirković, I. Božić, B. Popović, T. Isailović, S. Damjanović, Presence of glucocorticoid receptor gene polymorphism and metabolic syndrome as possible risk factors for adrenal incidentalomas development, 52<sup>es</sup> Journées H. P. Klotz, Adrenal Tumors & Hormone Excess: Oral communications, May 13-15, 2009, Paris, France, Annales d'Endocrinologie (Annales of Endocrinology), 2009; 70: 197-199. Извод из зборника међународног научног скупа, стр. 197. **M32**
10. **J. Antic**, M. Petakov, N. Dragicevic, S. Damjanovic, Detection of ER22/23EK and *BclII* polymorphisms in glucocorticoid receptor gene in blood donors from Belgrade community, Congress on Steroid Research, 27-29 March, 2011, Chicago, USA. Извод из зборника међународног научног скупа, стр. 36. **M34**
11. **J. Antic**, M. Petakov, S. Ognjanovic, N. Dragicevic, S. Damjanovic, Presence of *BclII* glucocorticoid receptor gene polymorphism could be an indicator of metabolic syndrome predisposition, 4<sup>th</sup> International Congress on Prediabetes and the Metabolic Syndrome, 6-9 April, 2011, Madrid, Spain. Извод из зборника међународног научног скупа, стр. 140. **M34**
12. **Antić J.**, Petakov M., Ognjanović S., Dragičević N., Damjanović S., Increased frequency of the *BclII* and N363S glucocorticoid receptor gene polymorphisms in patients with hyperthyroidism, 14<sup>th</sup> International Congress on Hormonal Steroids and Hormones & Cancer, September 21-24, 2010, Edinburgh, Scotland. Извод из зборника међународног научног скупа, стр. 122. **M34**

Б4. Конгресна саопштења на скуповима домаћег значаја

#### **Мишљење и предлог Комисије:**

Докторска дисертација мр Јадранке А. Антић „**Значај полиморфизама у генима за глукокортикоидни и адренкортикотропни рецептор у настанку адrenalних инциденталума**“ бави се изучавањем једне веома значајне, али још увек недовољно истражене теме из области генетике ендокриних тумора, а то су адrenalни инциденталуми. Пошто су ови тумори доста чест налаз у општој популацији средњег и старијег животног доба, а узрок њиховог настанка још није познат, научно истраживање које је усмерено у правцу његовог откривања представља веома важан научни допринос. Додатни значај овог истраживања је и у томе што су његови резултати пружили бољи увид у разумевање улоге глукокортикоидног и адренкортикотропног рецептора, као и глукокортикоидних хормона и адренкортикотропног хормона у патогенези адrenalних инциденталума.

Имајући у виду да код нас до сада нису рађена оваква истраживања и да, према доступним сазнањима, у свету постоји потреба за додатним, новим подацима из ове области, сматрамо да су резултати проистекли из ове докторске дисертације нови, оригинални и да осим конкретних резултата о постојању везе између присуства два полиморфизма

глукокортикоидног рецептора и настанка адrenalних инциденталoма, дају и јасне смернице у ком правцу треба да иду будућа истраживања на овом пољу.

На основу свега изложеног у овом Извештају, Комисија предлаже Наставно-научном већу Биолошког факултета Универзитета у Београду да прихвати докторску дисертацију кандидаткиње мр Јадранке А. Антић и одобри њену јавну одбрану.

**КОМИСИЈА:**

---

др Светозар Дамјановић, редовни професор,  
Медицински факултет, Универзитет у Београду

---

др Гордана Матић, редовни професор,  
Биолошки факултет, Универзитет у Београду

---

др Светислав Татић, редовни професор,  
Медицински факултет, Универзитет у Београду

У Београду, 07.04.2015. године.