

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

На VIII редовној седници Наставно-научног већа Универзитета у Београду - Биолошког факултета, одржаној 14. јуна 2024. године, на основу молбе ментора, др Биљане Божић Недељковић, редовног професора Биолошког факултета Универзитета у Београду и др Гордане Шупић, редовног професора Медицинског факултета Универзитета одбране одређена је Комисија за преглед и оцену докторске дисертације **Деборе Ф. Мишић** (рођене Штефик) под насловом: **“Повезаност варијанти гена за рецепторе сличне Toll-у, њихових регулаторних микро РНК и ретиноидног рецептора (RXR) са ризиком за настанак и клиничким параметрима остеоартритиса”**, у саставу: др Александра Петковић Турчин, доцент, Универзитет одбране у Београду-Медицински факултет, др Тања Лунић, научни сарадник, Универзитет у Београду-Биолошки факултет, др Ана Обрадовић, научни сарадник, Универзитет у Крагујевцу, Природно-математички факултет.

Комисија је прегледала урађену докторску дисертацију кандидаткиње и Наставно-научном већу Универзитета у Београду - Биолошког факултета подноси следећи

**ИЗВЕШТАЈ**

**Општи подаци о докторској дисертацији**

Докторска дисертација Деборе Ф. Мишић (рођене Штефик) под насловом: **“Повезаност варијанти гена за рецепторе сличне Toll-у, њихових регулаторних микро РНК и ретиноидног рецептора (RXR) са ризиком за настанак и клиничким параметрима остеоартритиса”** је реализована на Институту за медицинска истраживања Војномедицинске академије у Београду. Биолошки узорци су прикупљани у сарадњи са Клиником за ортопедију и трауматологију Војномедицинске академије.

Докторска дисертација је написана на 80 страна и уређена је према упутству за техничко обликовање докторских дисертација на Универзитету у Београду. Теза садржи све неопходне делове: увод (30 стране), циљеве рада (2 стране), материјал и методе (6 страна), резултате (12 страна), дискусију (13 страна), закључке (1 страна) и литературу (16 страна). Дисертација садржи и уобичајене уводне (непагиниране) елементе са неопходним информацијама о докторској дисертацији: насловну страну на српском и енглеском језику, страну са подацима о менторима, члановима комисије за одбрану докторске дисертације и датумом одбране, изјаве захвалности, сажетак докторске дисертације на српском и енглеском језику (резиме, кључне речи, научна област и ужа научна област), листу скраћеница и садржај. На крају дисертације су наведени биографија аутора и три прилога

(Изјава о ауторству, Изјава о истоветности штампане и електронске верзије докторске дисертације и Изјава о коришћењу). У оквиру докторске дисертације се налази 10 слика. Сlike које су преузете и модификоване су правилно цитиране према основном извору за који је рађена модификација. Дисертација садржи укупно 13 табела и 3 графика. У попису литературе налази се 226 цитираних библиографских јединица које су адекватно наведене у тексту.

## **Анализа докторске дисертације**

Кандидаткиња Дебора Ф. Мишић се у докторској дисертацији бавила испитивањем повезаности варијанти гена за рецепторе сличне Toll-у, њихових регулаторних микро РНК и ретиноидног рецептора (RXR) са ризиком за настанак и клиничким параметрима остеоартритиса код пацијената са радиографски потврђеном дијагнозом примарног остеоартритиса кука и колена који су у периоду од 2015. до 2018. године оперативно лечени на Клиници за ортопедију и трауматологију Војномедицинске академије у Београду.

**Увод** докторске дисертације подељен је на пет делова (*Остеоартритис, Рецептори слични Toll-у, Микро РНК, Ретиноидни X рецептор, Генетика остеоартритиса*). У делу *Остеоартритис*, кандидаткиња је навела најважније информације о остеоартритису. Епидемиолошки подаци који указују на широку распрострањеност и преваленцу обољења су дати у поднаслову *Епидемиологија остеоартритиса* чиме је истакнут значај проналажења адекватног терапијског приступа. У делу *Етиологија остеоартритиса* описана је класификација обољења и направљен је осврт на системске и локалне факторе ризика који доприносе настанку и прогресији овог обољења зглобова. У наставку уводног дела (*Дијагноза остеоартритиса*) дат је приказ дијагностичких метода и комплексност клиничке процене, док део *Профилактика и терапијски приступи* садржи податке о основним фармаколошким и нефармаколошким приступима у лечењу остеоартритиса. Посебан аспект уводног дела, *Патогенеза остеоартритиса* је посвећен патолошким процесима који леже у основи остеоартритиса са издвојеним освртом на запаљенску реакцију као централним догађајем у патогенези остеоартритиса. У другом поглављу Увода насловљеном *Рецептори слични Toll-у* кандидаткиња је у потпоглављима систематично изложила до сада познате чињенице о рецепторима сличним Toll-у (TLR). Најпре је у потпоглављу *Откриће рецептора сличних Toll-у* кандидаткиња дала историјске податке о открићу ових основних рецептора урођене имуности, а потом је у потпоглављу *Лиганди рецептора сличних Toll-у* дат детаљан приказ лиганада до сада откривених TLR, уз одговарајући табеларни приказ података. Наведена је подела TLR на основу локализације, као и TLR лиганди пореклом од патогена и пореклом од самог домаћина. У наредном потпоглављу *Експресија рецептора сличних Toll-у* направљен је осврт на податке о експресији TLR у/на ћелијама и њихова ткивна дистрибуција. Основна структура TLR описана је у потпоглављу *Грађа рецептора сличних Toll-у*. У засебном потпоглављу *Сигнализација рецептора сличних Toll-у* детаљно су, уз одговарајућу слику, објашњени

сигнални путеви TLR зависни од MyD88 и зависни од TRIF адаптерског молекула. Последњи поднаслов *Чланови породице рецептора сличних Toll-у* садржи детаљне податке о лигандима, функцији, експресији, дистрибуцији и сигнализацији понаособ за сваки TLR испитиван у овој студији. У трећем делу увода (*Микро РНК*) дате су основне информације о микро РНК, њиховој биогенези, биолошким функцијама, као и улогама у патолошким стањима. Дат је и опис три микро РНК (*miR-196a-2*, *miR-146a*, *miR-155*) чије су варијанте гена испитиване у овој студији. Описане су улоге ових микро РНК, као и међусобне интеракције. Четврти део Увода, *Ретиноидни X рецептор*, односи се на ретиноидни рецептор, његову грађу и сигнализацију. У последњем, петом делу Увода насловљеном *Генетика и остеоартритис* кандидаткиња је истакла значај GWAS студија у истраживањима патогенезе болести, где се из наведених података може донети закључак о оправданости истраживања одабраних варијанти гена за TLR, микро РНК и RXR.

У поглављу **Циљеви истраживања** дефинисани су општи циљеви докторске дисертације односно испитивање повезаности варијанти гена за TLR, микро РНК и RXR односно  $\alpha$  изоформе овог рецептора са ризиком за настанак и клиничким параметрима остеоартритиса. Ужи циљеви докторске дисертације су јасно и таксативно наведени:

1. Испитивање повезаности варијанти гена за TLR2 (rs5743708), TLR3 (rs3775291; rs5743312), TLR4 (rs4986790; rs4986791), TLR7 (rs3853839), TLR9 (rs187084), микро РНК које контролишу сигнализацију са наведених TLR-а (*miR-196a-2* (rs11614913), *miR-146a* (rs2910164), *miR-155* (rs767649) и *RXR $\alpha$*  (rs3118523; rs7864987) са демографским, етиолошким и клиничко-патолошким карактеристикама испитаника са остеоартритисом.
2. Испитивање учесталости генотипова варијанти гена за TLR2 (rs5743708), TLR3 (rs3775291; rs5743312), TLR4 (rs4986790; rs4986791), TLR7 (rs3853839), TLR9 (rs187084), микро РНК које су укључене у регулацију сигнализације са наведених TLR-а (*miR-196a-2* (rs11614913), *miR-146a* (rs2910164), *miR-155* (rs767649) и *RXR $\alpha$*  (rs3118523; rs7864987) код испитаника са остеоартритисом, као и код испитаника контролне групе.
3. Испитивање повезаности варијанти гена за TLR2 (rs5743708), TLR3 (rs3775291; rs5743312), TLR4 (rs4986790; rs4986791), TLR7 (rs3853839), TLR9 (rs187084), TLR регулаторних микро РНК (*miR-196a-2* (rs11614913), *miR-146a* (rs2910164), *miR-155* (rs767649) и *RXR $\alpha$*  (rs3118523; rs7864987) са ризиком за развој остеоартритиса.

У делу **Материјал и методе**, поднаслов *Етичке смернице* кандидаткиња је навела да је за спровођење студије добијена дозвола Етичког комитета Војномедицинске академије, као и да је студија спроведена у сагласности са етичким стандардима Хелсиншке декларације и њеним каснијим изменама. Потпоглавље *Студијска популација* описује одлике студијске групе, уз навођење критеријума за учествовање у студији или искључење из студије. Групу испитаника чинило је 95 особа са радиографски потврђеном дијагнозом примарног остеоартритиса који су оперативно лечени на Клиници за ортопедију и трауматологију ВМА, Београд, у периоду од 2015. до 2018. године. Сви испитаници су постоперативно праћени на Клиници за ортопедију ВМА. Демографски,

етиолошки и клинички параметри од значаја за спровођење студије прикупљани су приликом посета анкетирањем од стране ординирајућег лекара. Наведено је да је контролну групу чинило 104 здраве особе одговарајуће полне и старосне дистрибуције. У *Методама* су дати адекватни описи процедура које су коришћене при извођењу експеримената неопходних за реализацију постављених циљева. У седам логички одвојених подцелина објашњени су поступци изолације, провера квалитета, концентрације и чистоће добијене геномске ДНК, као и генотипизација полиморфизама нуклеотидне секвенце употребом методе ланчане реакције полимеризације у реалном времену. Такође су описане и статистичке методе које су коришћене у обради експериментима добијених података.

Поглавље **Резултати** докторске дисертације подељено је у 10 потпоглавља. Најпре су описане демографске и клиничке карактеристике испитаника са примарним остеоартритисом. У групи испитаника са примарним остеоартритисом (95 испитаника) процентуално су у већем броју били заступљени испитаници са примарним остеоартритисом кука (64%), док је преосталих 34% испитаника било подвргнуто тоталној артропластици колена. Просечна старост оболелих је била 69 година, а већину пацијената су чиниле особе женског пола (63%). Контролну групу чинило је 104 здрава испитаника, одговарајуће полне и старосне дистрибуције. У наредним потпоглављима су дати резултати према групи испитиваних гена који би се могли поделити на три целине. У потпоглављима 4.2. - 4.4. представљени су резултати анализе повезаности испитиваних варијанти гена са демографским и клиничким карактеристикама испитаника. Наредна три потпоглавља (4.5. - 4.7.) приказују податке добијене анализом дистрибуције генотипова испитиваних варијанти гена код испитаника оболелих од примарног остеоартритиса и контролне групе. Подаци добијени анализом повезаности испитиваних варијанти гена са ризиком за настанак остеоартритиса дати су у потпоглављима 4.8. - 4.10.

У првом делу резултата разматрана је повезаност варијанти гена за рецепторе сличне Toll-у, микро РНК и RXR $\alpha$  са демографским и клиничким карактеристикама испитаника (пол, локализација, старост према медијани, индекс телесне масе, пушење, физичка активност, историја повреда, породична анамнеза, рана појава остеоартритиса, менопауза, рана менопауза, оток зглоба). Резултати за сваку групу гена одвојени су у посебним потпоглављима и приказани су у табелама. Резултати докторске дисертације Деборе Ф. Мишић показују да је варијанта rs5743708 гена за TLR2 повезана са менопаузом, а уочена је и тенденција ка повезаности исте варијанте са пушењем. Анализа добијених података указала је и на тренд ка повезаности варијанте rs3853839 гена за TLR7 са локализацијом оболења, као и варијанте rs187084 гена за TLR9 и већег индекса телесне масе. Када је реч о варијантама гена за микро РНК, пронађена је веза између варијанте rs11614913 гена за miR-196a-2 са полом и претходном историјом повреда, као и тенденција ка повезаности ове варијанте са већим индексом телесне масе. Анализа је такође показала и повезаност варијанте rs767649 гена за miR-155 са раном менопаузом, као и тренд

повезаности ове варијанте са полом. Од испитиваних варијанти гена за  $RXR\alpha$ , уочена је повезаност варијанте rs7864987 са старошћу, као и тенденција асоцијације ове варијанте и индекса телесне масе. Овакви налази показују да би испитиване варијанте гена за рецепторе сличне Toll-у, микро РНК и  $RXR$  могле представљати значајне генетске чиниоце у патогенези остеоартритиса.

У другом делу резултата, анализа дистрибуције генотипова је представљена графичким приказима учесталости генотипова испитиваних варијанти гена код испитаника оболелих од остеоартритиса и здравих контрола. Статистички значајна разлика у дистрибуцији генотипова између контрола и испитаника са остеоартритисом је примећена за обе испитиване варијанте гена за TLR4 (rs4986790 и rs4986791), варијанту rs3853839 гена за TLR7 и за варијанту rs11614913 гена за miR-196a-2. Поређењем учесталости генотипова испитиваних варијанти гена између испитаника са остеоартритисом и контролне групе добијена је статистички значајна разлика за варијанту rs7864987 гена за  $RXR\alpha$ , као и тренд ка статистички значајној разлици у учесталости генотипова за другу анализирану варијанту овог гена, rs3118523.

У трећем делу резултата су у три табеле приказани подаци добијени анализом повезаности варијанти испитиваних гена са ризиком за настанак остеоартритиса. Логистичка регресиона анализа прилагођена старости и полу показала је да су варијанте rs4986790 и rs4986791 гена за TLR4, као и варијанта rs3853839 гена за TLR7 повезане са повећаним ризиком од остеоартритиса. Уочена је и значајна повезаност варијанте rs11614913 гена за miR-196a-2 са смањеним ризиком за остеоартритиса. Варијанта rs3118523 гена за  $RXR\alpha$  је повезана са смањеним ризиком, док је варијанта rs7864987 повезана са повећаним ризиком од остеоартритиса.

У **Дискусији** је кандидаткиња представила резултате докторске дисертације кроз призму раније публикованих података из области генетике остеоартритиса. Такође су наведени и подаци студија које обухватају истраживања на другим запаљенским болестима које деле основне карактеристике са остеоартритисом, а у циљу приказивања значаја испитиваних гена за рецепторе сличне Toll-у, микро РНК и  $RXR$  у патогенези имунски посредованих болести. Овакав приказ и дискусија резултата доприноси представљању комплексности остеоартритиса као запаљенској болести са јаком генетском основом. Истакнута је важност ове студије као прве студије која се бавила истраживањем генетских варијанти гена за TLR и микро РНК које су укључене у њихову регулацију, а нарочито у контексту испитивања  $RXR$  о чијим генским варијантама у патолошким стањима је доступан лимитирани број података. Последњи део Дискусије односи се на стратегије у лечењу и терапијске приступе где су описани установљени протоколи у које су имплементирани до сада познати и разјашњени механизми деловања имунског одговора. Кроз критички осврт на већ установљене чињенице о функцији и интеракцији бројних имунских медијатора у патогенези остеоартритиса, као и кроз податке о варијантама гена за TLR, микро РНК и  $RXR\alpha$  добијене у овој студији, кандидаткиња је пружила основу за

оправданост имплементације података добијених генетским анализама за потенцијалне терапије у будућности.

Из добијених резултата докторске дисертације, изведени су закључци које је кандидаткиња навела у таксативној форми у одељку **Закључци** и то су:

- Варијанта rs5743708 гена за TLR2 је статистички значајно повезана са менопаузом, а постоји и тенденција ка повезаности исте варијанте са пушењем. Такође је запажена тенденција ка повезаности варијанте rs3853839 гена за TLR7 са локализацијом обољења, као и варијанте rs187084 гена за TLR9 и већег индекса телесне масе.
- Варијанта rs11614913 гена за miR-196a-2 повезан је са полом, претходном повредом зглоба, а постоји и тенденција ка повезаности ове варијанте са већим индексом телесне масе. Уочена је и повезаност варијанте rs767649 гена за miR-155 са раном менопаузом, као и тренд ка повезаности овог полиморфизма са полом.
- Варијанта rs7864987 гена за RXR $\alpha$  је повезана са годинама старости, а постоји и тенденција ка повезаности са већим индексом телесне масе.
- Постоји статистички значајна разлика у заступљености генотипова за обе испитиване варијанте гена за TLR4 (rs4986790 и rs4986791), као и за варијанту гена за TLR7 rs3853839 између испитаника контролне групе и испитаника са остеоартритисом.
- Када је реч о варијантама гена за микро РНК, статистички значајна разлика у дистрибуцији генотипова уочена је за варијанту rs11614913 гена за miR-196a-2 између контролне групе и испитаника са остеоартритисом.
- Статистички значајна разлика у заступљености генотипова између контролне групе и групе пацијената са остеоартритисом примећена је и за варијанту rs7864987 гена за RXR $\alpha$ , док је за другу испитивану RXR $\alpha$  варијанту, rs31185223, уочен тренд ка статистички значајној разлици у учесталости генотипова између контролне и групе са остеоартритисом.
- Обе испитиване варијанте у гену за TLR4, rs4986790 и rs4986791, су значајно повезане са повећаним ризиком од остеоартритисом, као и варијанта rs3853839 гена за TLR7.
- Варијанта rs11614913 гена за miR-196a-2 је повезана са смањеним ризиком од остеоартритиса.
- Варијанта rs3118523 гена за RXR $\alpha$  повезана је са смањеним ризиком од ОА, док је друга испитивана варијанта овог гена, rs7864987 варијанта повезана са повећаним ризиком од остеоартритиса.

У последњем пасусу одељка Закључак кандидаткиња је истакла и неопходност спровођења додатних студија које би испитале већи број варијанти у оквиру појединачних гена, али и варијанте гена блиско лоцираних генима испитиваним у овој студији, у циљу бољег разумевања имунопатофизиологије и имуногенетике остеоартритиса и улоге TLR, микро РНК и RXR $\alpha$  у њима.

Кроз текст докторске дисертације канидаткиња Дебора Ф. Мишић користила је адекватно одабране литературне изворе који су савремени и релевантни за област којом се бавила. Цитирани литературни извори из домаћих и страних часописа су правилно наведени у тексту. Попис литературе у тексту је дат у делу **Литература**. Сви коришћени извори су уједначеног стила.

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

Радови у часописима од међународног значаја:

1. **Stefik D**, Vranic V, Ivkovic N, Velikic G, Maric DM, Abazovic D, Vojvodic D, Maric DL, Supic G. Potential Impact of Polymorphisms in Toll-like Receptors 2, 3, 4, 7, 9, miR-146a, miR-155, and miR-196a Genes on Osteoarthritis Susceptibility. *Biology* 2023; 12, 458. IF=4,2; M21.  
Линк ка публикацији на интернету: <https://doi.org/10.3390/biology12030458>
2. **Stefik D**, Vranic V, Ivkovic N, Bozic Nedeljkovic B, Supic G. Genetic variants in the retinoid X receptor gene contribute to osteoarthritis susceptibility. *Archives of Biological Sciences*. 2024;76(2):151-60.; IF=0,7; M23.  
Линк ка публикацији на интернету: <https://doi.org/10.2298/ABS240306010S>

## Провера оригиналности докторске дисертације

Докторска дисертација кандидата Деборе Ф. Мишић (рођене Штефик) број индекса Б3021/2017 послата је дана 16. јула 2024. године на софтверску проверу оригиналности. Извештај који садржи резултате провере оригиналности нам је достављен истог дана.

На основу извршене анализе коришћењем програма iThenticate, утврђен је проценат подударности од 9%. Детаљном анализом добијеног Извештаја и поклапања по сегментима, уочено је подударање са Internet четири пута по 1% и у свим другим случајевима мање од 1%. Добијени индекси подударности односе се на лична имена, опште појмове и нашироко коришћене синтагме, називе, скраћенице цитокина и испитиваних молекула, називе реагенаса, широко коришћене скраћенице, коришћење стандардних израза из области истраживања. Наведена преклапања краћих делова појединих различитих реченица нису повезана и не чине смислену целину. Уочене подударности су прихватљиве.

Када се све изнето узме у обзир, а у складу са чланом 9 Правилника о поступку провере оригиналности докторских дисертација, извештај указује на оригиналност докторске дисертације кандидата **Деборе Ф. Мишић**, под насловом **“Повезаност варијанти гена за рецепторе сличне Toll-у, њихових регулаторних микро РНК и ретиноидног рецептора (RXR) са ризиком за настанак и клиничким параметрима остеоартритиса”**, те се прописани поступак припреме за њену одбрану може наставити.

## Мишљење и предлог Комисије

Докторска дисертација кандидаткиње Деборе Ф. Мишић, под насловом **“Повезаност варијанти гена за рецепторе сличне Toll-у, њихових регулаторних микро РНК и ретиноидног рецептора (RXR) са ризиком за настанак и клиничким параметрима остеоартритиса”**, представља оригиналан научни рад. Током израде и писања докторске дисертације, кандидаткиња је показала способност и спремност на самосталан научно-истраживачки рад, постављање јасних циљева, њихову реализацију и критичко разматрање добијених резултата из којих произилазе адекватни закључци. Свеукупна оцена прегледане докторске дисертације је позитивна.

Резултати проистекли из ове докторске дисертације су публиковани у два међународна часописа (M21 и M23 категорије). Тиме су испуњени и формални услови неопходни за наредне академске кораке.



Именована комисија предлаже Наставно-научном Већу Биолошког факултета Универзитета у Београду да прихвати позитивну оцену докторске дисертације кандидаткиње **Деборе Ф. Мишић (рођене Штефик)**, под насловом “**Повезаност варијанти гена за рецепторе сличне Toll-у, њихових регулаторних микро РНК и ретиноидног рецептора (RXR) са ризиком за настанак и клиничким параметрима остеоартритиса**” и тиме омогући кандидаткињи јавну одбрану дисертације.

У Београду, 18. јула 2024. године

**КОМИСИЈА:**

---

др Александра Петковић Ћурчин, доцент

Универзитет одбране,

Медицински факултет Војномедицинске академије

---

др Тања Лунић, научни сарадник

Универзитет у Београду-Биолошки факултет

---

др Ана Обрадовић, научни сарадник

Универзитет у Крагујевцу-Природно-математички факултет