

НАСТАВНО-НАУЧНОМ ВЕЋУ УНИВЕРЗИТЕТА У БЕОГРАДУ - БИОЛОШКОГ ФАКУЛТЕТА

На III редовној седници Наставно-научног већа Универзитета у Београду - Биолошког факултета, одржаној 9. 12. 2024. године, на основу молбе ментора, др Горана Брајушковића, редовног професора Универзитета у Београду, одређена је Комисија за преглед и оцену докторске дисертације Срећка Ж. Рајевског, под насловом: „**Студија асоцијације варијанти у генима *PRMT6*, *PEX10*, *SOX5*, *MIR27A* и *MIR146A* са ризиком за развој идиопатске неплодности код мушкараца из Северне Македоније**”, у саставу: др Милош Бркушанин, доцент Универзитета у Београду-Биолошки факултет, др Јован Пешовић, доцент Универзитета у Београду-Биолошки факултет и др Зорана Добријевић, виши научни сарадник Универзитета у Београду-Институт за примену нуклеарне енергије –ИНЕП.

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

ИЗВЕШТАЈ

Општи подаци о докторској дисертацији

Веће научних области природних наука је на седници одржаној 28. 11. 2024. дало сагласност на одлуку Наставно-научног већа Биолошког факултета Универзитета у Београду, о прихватању теме докторске дисертације Срећка Ж. Рајевског, под насловом „**Студија асоцијације варијанти у генима *PRMT6*, *PEX10*, *SOX5*, *MIR27A* и *MIR146A* са ризиком за развој идиопатске неплодности код мушкараца из Северне Македоније**”.

Докторска дисертација Срећка Ж. Рајевског је оригинално научно истраживање које је урађено у Центру за хуману молекуларну генетику, Универзитета у Београду-Биолошког факултета.

Текст дисертације форматиран је и организован у складу са инструкцијама у упутству о облику и садржају докторских дисертација које се бране на Универзитету у Београду. Докторска дисертација садржи: насловну страну на српском и енглеском језику, податке о ментору и члановима комисије, захвалницу, резиме на српском и енглеском језику са кључним речима, листу скраћеница, садржај, текст рада по поглављима, литературу, биографију и три изјаве. Текст дисертације (83 стране) садржи следећа поглавља: Увод (странице 1-10), Циљеви рада (страница 11), Материјал и методе (странице 12-23), Резултати (странице 24-61), Дискусија (странице 62-69), Закључци (странице 70-71). Литература, у којој је цитирано 161 извор по Ванкуверском систему цитирања, излистана је на странама 72-83. Након биографије кандидата, приложене су следеће изјаве: Изјава о

ауторству, Изјава о истоветности штампане и електронске верзије докторске дисертације и Изјава о коришћењу. Докторат садржи 16 слика и 20 табела (три слике и две табеле у поглављу Увод, четири табеле у поглављу Материјал и Методе, 13 слика и 14 табела у поглављу Резултати).

Анализа докторске дисертације

Кандидат Срећко Ж. Рајевски је у докторској дисертацији изучавао асоцијацију варијанти у генима *PRMT6*, *PEX10*, *SOX5*, *MIR27A* и *MIR146A* са ризиком за развој идиопатске неплодности код мушкараца из Северне Македоније, као и са параметрима спермограма као што је број, покретљивост и морфологија сперматозоида.

Поглавље **Увод** организовано је у 4 целине. У првом делу који носи назив *Неплодност код мушкараца* дате су дефиниција и етиологија мушке неплодности, као и опис његове савремене дијагностике и лечења. *Молекуларна основа неплодности код мушкараца* је друга целина увода и у њему је описан значај хромозомских аберација, микроделеција дугог крака хромозома Y, варијација у броју копија и мутација у генима за протеине у развоју идиопатске мушке неплодности. Посебно су описане промене у епигенетичкој регулацији експресије гена као узрочник мушке неплодности, као и његова повезаност са молекулима митохондријске ДНК.

Циљ ове докторске дисертације је разумевање улоге одабраних тачкастих варијанти у генима за протеине (*PRMT6*, *PEX10* и *SOX5*) и микро РНК (*MIR27A* и *MIR146A*) и могућих популационих специфичности у етиологији идиопатске неплодности код мушкараца из Северне Македоније, као и могућа идентификација потенцијално нових биолошких маркера који би се као помоћни прогностички параметри користили у дијагностици и лечењу ове болести. **Специфични циљеви докторске дисертације** су јасно и таксативно наведени и приказујемо их у целости (преузето из докторске дисертације):

- Дизајнирање генетичке студије случајева и контрола (енг. *case-control study*) кроз дефинисање укључних и искључних критеријума за студију, прикупљање клиничких података испитаника, резултата спермограма и припремање колекције молекула геномске ДНК;
- Генотипизација тачкастих генетичких варијанти у генима за протеине *PRMT6* (rs12097821), *PEX10* (rs2477686) и *SOX5* (rs10842262);
- Анализа генетичких варијанти у генима за протеине селектованих на основу резултата GWA студије у групи болесника и контрола и њихове повезаности са ризиком за развој идиопатске неплодности код мушкараца из Северне Македоније;
- Мета-анализа резултата ове и других студија случајева и контрола које су за тему имале могућу асоцијацију ове три генетичке варијанте са ризиком за развој идиопатске неплодности;
- Генотипизација тачкастих генетичких варијанти у генима за микро РНК *MIR27A* (rs2910164) и *MIR146A* (rs895819); и

- Анализа селектованих генетичких варијанти у генима за микро РНК у групи болесника и контрола и њихове повезаности са ризиком за развој идиопатске неплодности код мушкараца из Северне Македоније.

Поглавље **Материјал и методе** подељено је у поднаслове Материјал и Методе. У поднаслову **Материјал** наведен је укупан број испитаника (183 мушкараца са дијагнозом идиопатске неплодности) и број контрола (130 фертилних мушкараца) из популације Северне Македоније. Таксативно су наведени критеријуми за укључивање мушкараца са идиопатском неплодношћу у групу случајева, као и подаци који су уврштени у базу података за сваког анализираног мушкараца понаособ.

Методе су приказане у 9 одвојених целина, у којима су детаљно описане експерименталне методе молекуларне генетике коришћене у реализацији наведених циљева. Кандидат је дао детаљан опис протокола по коме је вршена изолација геномске ДНК из узорак периферне крви, као и начине провере квалитета и одређивања концентрације изоловане геномске ДНК. Потом је приказан протокол, коришћени прајмери и ензими за генотипизацију варијанти rs12097821, rs2477686 и rs10842262 методом РФЛП. Поузданост одабране методе генотипизације проверавана је методом секвенцирања по Сангеру, а кандидат је у посебном поднаслову дао опис протокола припреме узорак за аутоматско секвенцирање. У следећем поднаслову дат је прецизан приказ статистичке обраде резултата генотипизације у оквиру студије случајева и контрола. У целини Мета-анализа асоцијације варијанти rs10842262, rs2477686 и rs12097821 са развојем идиопатске неплодности мушкараца дата је комбинација кључних речи по којима је претраживана база литературних података *PubMed*, као и предефинисани критеријуми по којима је вршена процена погодности радова за укључивање резултата у квантитативну синтезу. На крају поднаслова Методе дат је протокол по коме је вршена генотипизација варијанти rs2910164 и rs895819 коришћењем *TaqMan*[®] есеја за алелску дискриминацију.

Поглавље **Резултати** у оквиру докторске дисертације је уобличено у 9 целина. Резултати су приказани у табелама и на сликама и сви прикази су пропраћени одговарајућим легендама и објашњењима и уклопљени у целину са текстуалним описом резултата докторске дисертације. Први део дат у три целине односи се на резултате формирања базе података и биобанке узорак мушкараца из Северне Македоније, изолације геномске ДНК из узорак периферне крви и ПЦР реакција за умножавање ДНК фрагмената који окружују генетичке варијанте rs10842262, rs2477686 и rs12097821. У другом делу подељеном у три целине дати су резултати генотипизације ове три генетичке варијанте, провере генотипизације методом секвенцирања по Сангеру, као и резултати асоцијације одабраних генетичких варијанти у генима за протеине са ризиком за развој идиопатске неплодности код мушкараца из Северне Македоније. Трећи део резултата односи се на резултате мета-анализе асоцијације генетичких варијанти rs10842262, rs2477686 и rs12097821 са развојем идиопатске мушке неплодности. У последњем делу резултата приказаном у две целине дати су резултати генотипизације генетичких варијанти rs2910164 и rs895819 и резултати студије асоцијације ове две генетичке

варијанте са ризиком за развој идиопатске неплодности код мушкараца из Северне Македоније.

У поглављу **Дискусија** кандидат упоређује добијене резултате у оквиру своје докторске дисертације са резултатима других релеватних студија и даје адекватна објашњења за подударне и супротне резултате у односу на резултате у другим популацијама. У посебном делу Дискусије врло критички наводи главне недостатке својих студија случајева и контрола, као и значај добијених резултата.

На основу резултата докторске дисертације, кандидат је извео закључке који су представљени јасно и таксативно. **Закључци** ове докторске дисертације су следећи (преузето у целисти из докторске дисертације):

- Успешно је формирана база података и банка биолошких узорака мушкараца са клиничком дијагнозом идиопатске неплодности и фертилних мушкараца као контролне групе из популације Северне Македоније;
- Генетичке варијанте у генима *PRMT6* (rs12097821), *PEX10* (rs2477686) и *SOX5* (rs10842262) нису показале статистички значајну повезаност са ризиком за развој идиопатске неплодности код мушкараца из Северне Македоније;
- Учесталост алела Г генетичке варијанте rs10842262 је значајно повећана у групи неплодних мушкараца са ниском концентрацијом сперматозоида у ејакулату, у поређењу са фертилним мушкарцима према лог-адитивном генетичком моделу;
- Учесталост генотипа ГГ генетичке варијанте rs10842262 код мушкараца са олигоспермијом око два пута је већа у односу на ону утврђену код фертилних мушкараца према лог-адитивном генетичком моделу;
- Резултати мета-анализе указују на повезаност између мање учесталог алела Г генетичке варијанте rs10842262 и мушке идиопатске неплодности. Након стратификације према етничкој припадности учесника, rs10842262 је остао статистички значајно повезан са неплодношћу код мушкараца Азијског порекла, што сугеришу и алелски и рецесивни генетички модел;
- За другу тестирану варијанту rs2477686, резултати квантитативне синтезе података нису били статистички значајни по свим тестираним генетичким моделима. И након стратификације уноса спроведене према етничкој припадности учесника и резултатима спремограма мета-анализа није показала статистичку значајност;
- Резултати мета-анализе указују на повезаност између генетичке варијанте rs12097821 и идиопатске неплодности мушкараца према алелском, доминантном и рецесивном генетичком моделу;
- Генетичке варијанте у генима *MIR27A* (rs2910164) и *MIR146A* (rs895819) нису показале статистички значајну повезаност са ризиком за развој идиопатске неплодности код мушкараца из Северне Македоније;
- Резултати наше студије случајева и контрола показали су повезаност генетичких варијанти у генима *MIR27A* (rs2910164) и *MIR27A* (rs895819) са одређеним подтипovima идиопатске неплодности код мушкараца из Северне Македоније;

- Мање учестали алел Ц rs2910164 статистички је значајно чешћи код мушкараца са астенотератозооспермијом у односу на друге подтипове идиопатске неплодности код мушкараца из Северне Македоније према овер-доминантном генетичком моделу;
- Неплодни мушкарци са присуством сперматозоида доказаним резултатима спермограма са генотипом ГЦ варијанте rs2910164 показали су нижи проценат живих сперматозоида према овер-доминантном генетичком моделу; и
- Носиоци генотипа ТЦ генетичке варијанте rs895819 показали су нижи проценат прогресивно покретних сперматозоида у поређењу са неплодним мушкарцима са најчешћим генотипом ТТ.

При писању докторске дисертације, кандидат је цитирао 161 литературни извор који је релевантан за научну област докторске дисертације. Сви коришћени литературни извори су правилно и уједначеним стилем наведени у тексту. Комплетан попис коришћене литературе је дат у оквиру целине **Литература**.

Радови и конгресна саопштења из докторске дисертације

Б1. Радови у часописима међународног значаја

- 1. Rajovski S, Matijašević Joković S, Milanović N, Radovanović N, Brkušnin M, Savić-Pavićević D, Dobrijević Z, Brajušković G.** Association between genetic variants in hsa-mir-27a and hsa-mir-146a genes and male infertility. *Journal of Medical Biochemistry* 2024; 43(6):936-45.
IF₂₀₂₂=2,5 **M23**
<https://scindeks.ceon.rs/Article.aspx?artid=1452-82582406936R>
- 2. Rajovski S, Vučić N, Karanović J, Matijašević S, Savić-Pavićević D, Dobrijević Z, Brajušković G.** Association of PRMT6, PEX10 and SOX5 genetic variants with idiopathic male infertility: Evidence from North Macedonian population and an updated meta-analysis. *Genetika* 2023;55(1):355-72.
IF₂₀₂₁=0,753 **M23**
<https://doi.org/10.2298/GENSR2301355R>

Провера оригиналности докторске дисертације

На основу Правилника о поступку провере оригиналности докторских дисертација које се бране на Универзитету у Београду и налаза у извештају из програма *iThenticate* којим је извршена провера оригиналности докторске дисертације, ментор је констатовао да утврђено подударане текста износи 6%. Увидом у Извештај утврђено је подударане са 54 сумарна извора. Детаљном анализом добијеног Извештаја и поклапања по сегментима, уочено је да је подударане са два извора било по 1% и у свим преосталим случајевима мање од 1%. Поклапања су превасходно потицала од општих места и података која се тичу формата дисертације и уобичајених фраза карактеристичних за тематику докторске дисертације. На основу свега изнетог, а у складу са чланом 8. став 2. Правилника о поступку провере оригиналности докторских дисертација које се бране на Универзитету у Београду, ментор је оценио да извештај указује на оригиналност докторске дисертације.

Мишљење и предлог Комисије

Докторска дисертација кандидата Срећка Ж. Рајевског, под насловом „**Студија асоцијације варијанти у генима *PRMT6, PEX10, SOX5, MIR27A* и *MIR146A* са ризиком за развој идиопатске неплодности код мушкараца из Северне Македоније**” представља оригиналан допринос у разумевању молекуларне генетике идиопатске неплодности код мушкараца. Кандидат је анализирао повезаност три генетичке варијанте у генима за протеине које су идентификоване на основу иницијалне GWA студије која је за тему имала идиопатску неплодност код мушкараца, као и две потенцијално функционалне генетичке варијанте у генима за микро РНК са ризиком за настанак идиопатске неплодности код мушкараца. Ово су прве две студије случајева и контрола које су рађене на узорцима мушкараца са идиопатском неплодношћу из Северне Македоније. Посебан допринос ове докторске дисертације је и урађена мета-анализа која је дала квантитативну синтезу података анализираних генетичких варијанти у генима за протеине са ризиком за развој идиопатске неплодности код мушкараца. У оквиру ове докторске дисертације приказани су и резултати прве студије случајева и контрола која је за тему имала испитивање асоцијације потенцијално функционалних варијанти у генима *MIR27A* и *MIR146A* са ризиком за развој мушке неплодности.

Именована Комисије предлаже Наставно-научном већу Биолошког факултета Универзитета у Београду да прихвати позитивну оцену докторске дисертације кандидата Срећка Ж. Рајевског, под насловом „**Студија асоцијације варијанти у генима *PRMT6, PEX10, SOX5, MIR27A* и *MIR146A* са ризиком за развој идиопатске неплодности код мушкараца из Северне Македоније**” и тиме омогући кандидату да одбрани докторску дисертацију.

У Београду, 10. 12. 2024. године

КОМИСИЈА:

др Милош Бркушанин, доцент Универзитет у Београду - Биолошки факултет

др Јован Пешовић, доцент Универзитет у Београду - Биолошки факултет

др Зорана Добријевић, виши научни сарадник Универзитет у Београду - Институт за примену нуклеарне енергије - ИНЕП