НАСТАВНО-НАУЧНОМ ВЕЋУ УНИВЕРЗИТЕТА У БЕОГРАДУ - БИОЛОШКОГ ФАКУЛТЕТА

На VI редовној седници Наставно-научног већа Универзитета у Београду - Биолошког факултета, одржаној 12.04.2019. године, на основу молбе ментора, др Николе Котура и проф. др Гордане Матић, одређена је Комисија за преглед и оцену докторске дисертације Владимира В. Гашића, истраживача сарадника на Институту за молекуларну генетику и генетичко инжењерство, Универзитета у Београду под насловом: „**Фармакогеномски и фармакотранскриптомски маркери одговора на терапију глукокортикоидним лековима код деце са акутном лимфобластном леукемијом: молекуларни механизам деловања, клинички и популациони аспекти**“, у саставу: др Никола Котур, научни сарадник, Институт за молекуларну генетику и генетичко инжењерство, Универзитет у Београду, ментор; др Гордана Матић, редовни професор, Биолошки факултет, Универзитет у Београду, ментор; др Бранка Зукић, виши научни сарадник, Институт за молекуларну генетику и генетичко инжењерство, Универзитет у Београду, члан; др Светлана Радовић, редовни професор, Биолошки факултет, Универзитет у Београду, члан; др Лидија Кривокапић Докмановић, ванредни професор, Медицински факултет, Универзитет у Београду, члан.

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

И З В Е Ш Т А Ј

Општи подаци о докторској дисертацији

Докторска дисертација Владимира Гашића “**Фармакогеномски и фармакотранскриптомски маркери одговора на терапију глукокортикоидним лековима код деце са акутном лимфобластном леукемијом: молекуларни механизам деловања, клинички и популациони аспекти**″ представља оригинално истраживање које за тему има проучавање биомаркера одговора на терапију глукокортикоидним лековима код деце оболеле од акутне лимфобластне леукемије (АЛЛ). Ова докторска дисертација је урађена у Лабораторији за молекуларну биомедицину Института за молекуларну генетику и генетичко инжењерсво, Универзитет у Београду, у оквиру пројекта ”Ретке болести: молекуларна патофизиологија, дијагностички и терапијски модалитети и социјални, етички и правни аспекти (ИИИ 41004)”.

Докторска дисертација садржи: Насловну страну на српском и енглеском језику, Податке о менторима и члановима комисије, Резиме на српском и енглеском језику са кључним речима, Садржај, Текст по поглављима, Списак литературе, Биографију аутора и Прилоге. Докторска дисертација написана је на 101 страници, садржи 14 слика и 13 табела. Дисертација је подељена на 7 поглавља: **Увод** (1-23 стране), **Циљ рада** (24-26 стране), **Материјал и методе** (27-42 стране), **Резултати** (43-70 стране), **Дискусија** (71-85 стране), **Закључци** (86-88 стране) и **Библиографија** (89-101 стране). У прилозима се налазе: Биографија аутора, Изјава о ауторству, Изјава о истоветности штампане и електронске верзије докторске дисертације и Изјава о коришћењу.

Анализа докторске дисертације

Предмет докторске дисертације је анализа биомаркера одговора на терапију глукокотртикоидним лековима код деце оболеле од АЛЛ. Докторска дисертација укључује ретроспективну клиничку студију фармакогеномских и фармакотранскриптомских маркера у деце оболеле од АЛЛ, истраживање молекуларног механизма дејства глукокортикоидних лекова и дуге некодирајуће РНК GAS5 (Growth arrest specific 5), као и студију фармакогеномских маркера као предиктора ефикасности глукокортикоидних лекова у популацији Србије.

У поглављу УВОД разматрана су општа и савремена сазнања везана за фармакогеномику дечје АЛЛ. Описан је протокол којим се ови пацијенти лече у Србији, укључујући преглед лекова и основне клиничке парамтере који служе за стратификацију пацијената и процену одговора на терапију. Детаљно су описани метаболички пут и дејство глукокортикоидних лекова, са фокусом на улогу NF-κB (eng. nuclear factor kappa-light-chain-enhancer of activated B cells) и РНК *GAS5*.

Поглавље ЦИЉЕВИ садржи јасно дефинисане циљеве овог истраживања. Прва два циља се односе на фармакогенетичку/фармакотранскрипциону, ретроспективну, клиничку студију одабраних ДНК и РНК маркера одговора на глукокортикоидне лекове у фази индукције ремисије АЛЛ. Трећи циљ се односи на проучавање међусобног односа глукокортикоидних лекова, РНК *GAS5* и NF-κB. Последњи циљ ове дисертације је усмерен изучавање фармакогеномских маркера одговора на глукокортикоидне лекове у популацији Србије.

У оквиру поглавља МАТЕРИЈАЛ И МЕТОДЕ прецизно су дефинисане групе педијатријских АЛЛ пацијента, као и контролна група испитаника. Детаљно су описане примењене методе базиране на реакцији ланчаног умножавања, коришћене за детекцију генетичких варијанти. Такође, описан је qRT-PCR есеј и остале методе потребне за анализу нивоа експресије РНК *GAS5*. Представљена је и методологија за извођење есеја успорене електрофоретске покретљивости. Коначно, описана је метода секвенцирања нове генерације, као и критеријуми за одабир фармакогена и фармакогеномичких маркера одговора на глукокортикоидне лекове. Методе за статистичку обраду резултата су такође представљене.

У поглављу РЕЗУЛТАТИ кандидат је изложио добијене резултате спроведеног истраживања. Први део овог поглавља се односи на ретроспективну, клиничку, фармакогенетичку студију одговора на глукокортикоидне лекове у фази индукције ремисије. Резултати су показали да је ретки GG генотип варијанте rs6198 у гену *NR3C1* асоциран са лошим терапијским одговором, док је хаплотип CAA (rs33389-rs33388-rs6198) гена *NR3C1* асоциран са добрим терапијским одговором.

Други део поглавља РЕЗУЛТАТИ се односи на фармакотранскрипциону студију одговора на глукокортикоидне лекове у фази индукције ремисије. Показано је да је ниво експресије *GAS5* 15. дана био виши у односу на ниво експресије на дан дијагнозе, док се ниво експресије *GAS5* 33. дана смањио у односу на ниво експресије 15. дана, али је и даље био виши него на дан дијагнозе. Показано је још да је виши ниво експресије *GAS5* на дан дијагнозе асоциран са мањим бројем бласта, указујући на позитиван ефекат *GAS5* на одговор на терапију глукокортикоидним лековима у иницијалној фази терапије АЛЛ. Анализиран је и однос између нивоа експресије *GAS5* 15. дана и на дан дијагнозе. Што је експресија *GAS5* била виша 15. дана у односу на ниво експресије на дан дијагнозе, већи је био број бласта 8. дана терапијског протокола, указујући на асоцијацију између лошег терапијског одговора и пораста *GAS5* експресије током терапијске фазе индукције ремисије.

Трећи део поглавља РЕЗУЛТАТИ се односи на расветљавање међусобног односа РНК *GAS5*, глукокортикоидних лекова и транскрипционог фактора NF-κB. Прелиминарни резултати су показали да са повећањем експресије *GAS5*, расте афинитет везивања протеинског комплекса у коме учествује NF-κB за регулаторни елемент NF-κB. Резултати су такође показали да се ДНК-везујућа активност протеинског комплекса у коме учествује NF-κB, мења у присуству глукокортикоидних лекова.

Последњи део поглавља РЕЗУЛТАТИ представља популационо-фармакогеномску студију одговора на глукокортикоидне лекове. Најпре су анализиране варијанте које су раније довођене у везу са одговором на терапије глукокортикоидним лековима. Коришћењем предиктивних алгоритама, анализа је проширена на потенцијално нове маркере одговора на терапију глукокортикоидним лековима. Међу детектованим варијантама, посебну издвојено је њих 6: 3 варијанте по предикцији имају највећи утицај на функционалност ензима који кодирају (*ABCB1* c.947A>G, *NCOA3* rs138733364 i *TBX21* rs14059812), 2 варијанте су занимљиве као потенцијални фармакогеномски маркери због своје високе учесталости ((*FCER2* rs28364072 – 34% i *NCOA3* rs2230782 – 12.5%), и варијанта која је учесталија у популацији Србије него у Европи, *NCOA3* rs6094752.

У поглављу ДИСКУСИЈА**,** сходно задатим циљевима и представљеним резултатима, разматран је клинички значај добијених резултата и дат упоредни преглед са литературним подацима. Глукокортикоидни лекови се користе у лечењу многих болести, а поред тога су кључни за индукцију ремисије код АЛЛ. Релативно мали број студија је проучавао генетичке маркере одговора на глукокортикоидне лекове, а РНК *GAS5* до сада није изучавана у овом контексту. Дискутована је потреба да се резултати добијени у овој студији валидирају у репликативним студијама.

У поглављу ЗАКЉУЧЦИ, јасно је изнето 13 закључака који у потпуности произилазе из добијених резултата.

У поглављу БИБЛИОГРАФИЈА, наведен је списак од 196 цитираних страних и домаћих научних часописа и књига. Коришћена литература је адекватна, актуелана и довољно широка да покрива све аспекте истраживања. Навођења литературе у самом тексту дисертације је примерена и по садржају и по месту.

Радови и конгресна саопштења из докторске дисертације

Б1. Радови у часописима међународног значаја

V. Gasic, B. Zukic, B. Stankovic, D. Janic, L. Dokmanovic, J. Lazic, N. Krstovski, V. Dolzan, J. Jazbec, S. Pavlovic, and N. Kotur, “Pharmacogenomic markers of glucocorticoid response in the initial phase of remission induction therapy in childhood acute lymphoblastic leukemia,” Radiol. Oncol., vol. 52, no. 3, pp. 296–306, Sep. 2018. (M22)
https://www.ncbi.nlm.nih.gov/pubmed/30210047

V. Gasic, B. Stankovic, B. Zukic, D. Janic, L. Dokmanovic, N. Krstovski, J. Lazic, G. Milosevic, M. Lucafò, G. Stocco, G. Decorti, S. Pavlovic, and N. Kotur, “Expression Pattern of Long Non-Coding RNA

Growth Arrest-Specific 5 in the Remission Induction Therapy in Childhood Acute Lymphoblastic Leukemia," J. Med. Biochem., vol. 0, no. 0, pp. 1–7, 2018. (M23)
https://content.sciendo.com/abstract/journals/jomb/ahead-of-print/article-10.2478-jomb-2018-0038.xml?rskey=Ok8KAZ&result=9

Б2. Конгресна саопштења на скуповима међународног значаја

Vladimir Gašić, Nikola Kotur, Biljana Stanković, Branka Zukić, Nataša Tošić, Dragana Janić, Lidija Dokmanović, Nada Krstovski, Jelena Lazić, Goran Milošević, Sonja Pavlović. Pharmacogenomic Biomarkers of Gkucocorticoid Sensitivity and Disease Outcome in Childhood Acute Lymphoblastic Leukemia. CoMBoS 2017, Book of abstracts p.125. (M34)

Nikola Kotur, Biljana Stanković, Vladimir Gašić, Branka Zukić, Kristel Klaassen, Sanja Srzentić, Ksenija Vučićević, Sonja Pavlović. Population pharmacogenomic aspect of glucocorticoids response in Serbian population. BelBi 2018, Books of abstracts p.113. (M34)

Мишљење и предлог Комисије

Докторска дисертација кандидата **Владимира В. Гашића**, под насловом **„Фармакогеномски и фармакотранскриптомски маркери одговора на терапију глукокортикоидним лековима код деце са акутном лимфобластном леукемијом: молекуларни механизам деловања, клинички и популациони аспекти“** представља оригиналан научни рад који се бави откривањем молекуларних маркера одговора на глукокортикоидне лекове код деце оболеле од АЛЛ. Теза се одликује јасно дефинисаним циљевима и адекватно планираним и успешно реализованим истраживачким поступком. Остварени резултати објављени су у оквиру два оригинална научна рада, што потврђује актуелност и значајност добијених резултата. Такође, текст дисертације је прошао проверу оригиналности.

На основу увида у експериментални рад, постигнуте резултате, као и написану докторску тезу, Комисија закључује да су задаци постављени у циљевима испуњени, тако да позитивно оцењује докторску тезу и има задовољство да предложи Наставно-научном већу Биолошког факултета, Универзитета у Београду, да прихвати позитивну оцену докторске дисертације Владимира В. Гашића и омогући кандидату јавну одбрану рада.

КОМИСИЈА:

У Београду, 15.04.2019. године

_____

др Никола Котур, научни сарадник, Институт за молекуларну генетику и генетичко инжењерство, Универзитет у Београду, ментор

_____

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

_____

др Бранка Зукић, виши научни сарадник, Институт за молекуларну генетику и генетичко инжењерство, Универзитет у Београду, члан

_____

др Светлана Радовић, редовни професор, Биолошки факултет, Универзитет у Београду, члан

_____

др Лидија Кривокапић Докмановић, ванредни професор, Медицински факултет, Универзитет у Београду, члан