

НАСТАВНО-НАУЧНОМ ВЕЋУ УНИВЕРЗИТЕТА У БЕОГРАДУ - БИОЛОШКОГ ФАКУЛТЕТА

На VII редовној седници Наставно-научног већа Универзитета у Београду - Биолошког факултета, одржаној 13.05.2022. године, на основу молбе ментора, др Бата Кораћа, ванредног професора Биолошког факултета Универзитета у Београду и др Силване Андрић, редовног професора Природно-математичког факултета Универзитета у Новом Саду одређена је Комисија за преглед и оцену докторске дисертације Исидоре М Старовлах, асистента Природно-математичког факултета Универзитета у Новом Саду под насловом: „*Митохондријална биогенеза као механизам адаптације специфичних типова ћелија репродуктивне осовине*“, у саставу: др Татјана Костић, редовни професор, Универзитет у Новом Саду - Природно-математички факултет, др Александра Кораћ, редовни професор, Универзитет у Београду - Биолошки факултет, др Соња Каишаревић, редовни професор, Универзитет у Новом Саду - Природно-математички факултет, др Небојша Јаснић, ванредни професор, Универзитет у Београду - Биолошки 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 Исидоре М. Старовлах, асистента Природно-математичког факултета Универзитета у Новом Саду, под насловом „*Митохондријална биогенеза као механизам адаптације специфичних типова ћелија репродуктивне осовине*“ урађена је на Природно-математичком факултету Универзитета у Новом Саду у оквиру пројеката: (1) ОН173057 и Ев.бр. 451-03-9/2021-14/200125 Министарства просвете, науке и технолошког развоја Републике Србије: „*Молекуларни механизми и путеви сигналне трансдукције укључени у регулацију стероидогенезе и адаптацију Leydig-ових ћелија на поремећену хомеостазу*“ (руководилац: проф. др Татјана Костић); (2) АПВ2708 Покрајинског секретаријата за науку и технолошки развој Војводине: „*Да ли начин живота може узроковати смањење мушке фертилности?*“ (руководилац: проф. др Татјана Костић); (3) АПВ2856 Покрајинског секретаријата за науку и технолошки развој Војводине: „*Да ли су репродуктивни хормони карика која повезује стрес, метаболички синдром и старење*“ (руководилац: проф. др Силвана Андрић); (4) АПВ970 Покрајинског секретаријата за науку и технолошки развој Војводине: „*Сигнални путеви и молекуларни механизми укључени у одржавање хомеостазе сексуалних стероида*“ (руководилац: проф. др Силвана Андрић); (5) SCOPES #IZ7330-128070 Швајцарске националне фондације: „*Investigating the role of the insulin receptor family in regulating testicular steroidogenesis*“ (руководиоци: проф. др Serge Nef, проф. др Силвана Андрић); (6) EUTech4PoC Пројекат Европске Уније: „*Mito-Fert-Signature: a new prognostic/diagnostic tool to detect male (in) fertility using mitochondrial markers in spermatozoa*“ (руководилац: проф. др Силвана Андрић).

Докторска дисертација је написана на 190 страна и чине је следећа поглавља: Увод (1 страна), Преглед литературе (21 страна), Циљеви истраживања (4 стране), Материјал и методе (35 страна), Резултати (74 стране), Дискусија (26 страна), Закључци (7 страна), Литература (15 страна) и Биографија (1 страна). Дисертација садржи 76 слика (преглед литературе: 7, материјал и методе: 12, резултати: 54, дискусија: 3, закључци: 3), 14 табела (материјал и методе: 11, резултати: 3) и 197 литературних навода. Дисертација садржи и 14 уводних страна и то: насловну страну на српском и енглеском језику, страну са подацима о менторима и члановима комисије, захвалницу, сажетак на српском и енглеском језику, списак радова у којима је приказан део резултата докторске дисертације, списак пројеката којима је финансирана израда докторске дисертације и 6 страна садржаја. На крају дисертације приложена су следећа документа: Изјава о ауторству, Изјава о истовестности штампане и електронске верзије докторског рада и Изјава о коришћењу (4 стране).

Анализа докторске дисертације

I поглавље: УВОД (1 страна):

У овом поглављу укратко и једноставно је описана проблематика дисертације.

II поглавље: ПРЕГЛЕД ЛИТЕРАТУРЕ (21 страна): подељен у 4 целине:

2.1. Функционална организација хипоталамо-хипофизно-адrenalне осовине

У тексту су описане примарне структуре хипоталамо-хипофизно-адrenalне осовине, са посебним освртом на адrenalну жлезду. Дат је опис региона адrenalне жлезде као и зоне кортекса адrenalне жлезде са типовима ћелија које их чине, као и морфологије митохондрија ћелија различитих зона кортекса. Описано је место синтезе глукокортикоида, типови рецептора преко којих делују, локализација наведених рецептора, као и кратко објашњење сигналних путева које активирају.

2.2. Функционална организација хипоталамо-хипофизно-гонадалне осовине

У овом потпоглављу дат је кратак увод о механизму негативне повратне спреге хипоталамо-хипофизно-гонадалне осовине. Дат је опис контроле секреције хипоталамичног GnRH хормона, као и опис GnRH рецептора и хормон-рецептор интеракције. У другом делу овог подпоглавља дат је опис гонадотропина (FSH и LH), њихових рецептора као и сигналних путева којим делују. Такође, наведене су и физиолошке функције гонадотропина. Описана је биосинтеза и секреција тестостерона у Лајдиговим ћелијама, типови фракција тестостерона у циркулацији, као и механизам деловања тестостерона у циљним ћелијама.

2.3. Сперматогенеза, грађа и функција сперматозоида

У уводном делу овог подпоглавља детаљно је описан процес сперматогенезе, дужина трајања сперматогенезе код пацова и човека, фазе сперматогенезе, типови сперматогонија које се налазе у семиниферним тубулама, као и стадијуми развоја кроз које наведене ћелије пролазе. Описане су морфолошке карактеристике сперматозоида, са детаљним описом сваког дела сперматозоида, као и унутарћелијским структурама које улазе у састав појединачних делова сперматозоида. Други део детаљно описује процес капацитације у *in vivo* и *in vitro* условима, као и молекуларне догађаје у процесу капацитације сперматозоида. Описане су молекуларне промене у сперматозоиду након контакта са јајном ћелијом, као и каскада догађаја након контакта сперматозоида и јајне

ћелије. Поред тога описани су и механизми активације акрозомске реакције различитим супстанцама у *in vitro* условима. Трећи део овог подпоглавља описује регулацију контролних тачака сперматогенезе тестостероном и андрогеним рецептором као и улогу тестостерона у процесу сперматогенезе.

2.4. Митохондрије и њихов значај у сперматозоидима

У овом подпоглављу дат је преглед литературних података о улози митохондрија у сперматозоидима. Описани су параметри функционалности митохондрија који су до сада идентификовани као значајни фактори у регулацији функције сперматозоида. Дефинисани су процеси који чине митохондријалну динамику и дат је преглед основних молекуларних маркера ових процеса. Дат је опис митохондријалне мреже у сперматозоидима, примери биохемијских путева који обезбеђују енергију за покретљивост сперматозоида као и детаљан опис митохондријалне ДНК као потенцијалног неинвазивног биомаркера квалитета сперматозоида. Представљен је детаљан опис сигналних путева укључених у регулацију митохондријалне динамике и функционалности сперматозоида, са посебним фокусом на cAMP и MAPK сигналне путеве.

III поглавље: ЦИЉЕВИ ИСТРАЖИВАЊА (4 стране):

Ово поглавље је конципирано дефинисањем најпре општег циља, а затим и специфичних циљева. Општи циљ истраживања је карактеризација молекуларних профила маркера митохондријалне динамике и регулаторних сигналних молекула као механизма адаптације специфичних ћелијских типова репродуктивне осовине, са посебним фокусом на сперматозоиде, а у условима поремећене хомеостазе циркулишућих андрогена. Специфични циљеви истраживања су везани за различите *in vivo* моделе који мимикрирају ситуације у адултној хуманој популацији, а односе се на поремећену хомеостазу циркулишућих андрогена.

- (1) Карактеризација молекуларних профила маркера митохондријалне динамике који се развијају као механизам адаптације специфичних типова ћелија репродуктивне осовине у условима акутног и понављаног психофизичког стреса.
- (2) Карактеризација молекуларних профила маркера митохондријалне динамике који се развијају као механизам адаптације сперматозоида током опоравка организма од акутног психофизичког стреса (најчешћег типа стреса у хуманој популацији) у различитим временским тачкама у току дана.
- (3) Карактеризација молекуларних профила маркера митохондријалне динамике који се развијају као механизам адаптације сперматозоида током понављаног психофизичког стреса организма примењеног у различитим временским тачкама у току дана.
- (4) Карактеризација молекуларних профила маркера митохондријалне биогенезе који се развијају као механизам адаптације сперматозоида старих мужјака пацова.
- (5) Карактеризација молекуларних профила маркера митохондријалне биогенезе који се развијају као механизам адаптације сперматозоида хипогонадалних мужјака пацова.
- (6) Карактеризација утицаја хипогонадизма адултних мишева код којих је хипогонадизам проузрокован кондиционалном делецијом гена за инсулински и IGF1 рецептор у стероидогеним ћелијама на број и функционалност сперматозоида.
- (7) Карактеризација молекуларних профила маркера митохондријалне биогенезе који се развијају као механизам адаптације сперматозоида старих мужјака пацова акутно и понављано *in vivo* третираних Силденафилом.

(8) Карактеризација молекуларних профила маркера митохондријалне биогенезе који се развијају као механизам адаптације сперматозоида адултних и старих мужјака пацова *in vivo* третираних леком за дијабетес тип 2, Метформин.

IV поглавље: МАТЕРИЈАЛ И МЕТОДЕ (35 страна, 12 слика, 11 табела):

Текст поглавља садржи информације о хемикалијама коришћеним у раду, условима гајења експерименталних животиња, као и описе *in vivo* и *ex vivo* експерименталних модела који су подељени у четири целине:

- (1) Природни експериментални *in vivo* модели: модел психофизичког стреса имобилизацијом и модел старења.
- (2) Експериментални *in vivo* модели са фармаколошком интервенцијом: хипогонадотропни хипогонадизам, старење у комбинацији са оралном применом Силденафила (Viagra), старење у комбинацији са оралном применом Метформина (лек за дијабетес тип 2).
- (3) Експериментални *in vivo* модели засновани на функционалној геномици: коришћењем генетски модификованих тј. трансгених мишева (тзв. knock-out мишеви).
- (4) Експериментални *ex vivo* модели којима се врши манипулација сигналних путева: *ex vivo* примена хормона стреса, адреналина и хидрокортизона, самих или у комбинацији са блокаторима $\alpha 1$ - и β -адренергичких рецептора, као и блокатора глукокортикоидних рецептора; *ex vivo* примена Силденафила и Метформина.

Фазе експерименталних поступака су сумиране и представљене одговарајућим шематским приказима. Примењене методе су поуздане и адекватне за остваривање описаних експерименталних поставки и циљева истраживања.

Квантитативно изражено, праћено је 11 функционалних параметара (не кроз све моделе):

- (1) Концентрација LH у серуму.
- (2) Концентрација андрогена (Т+DHT) у серуму.
- (3) Концентрација адреналина у серуму.
- (4) Концентрација кортикостерона у серуму.
- (5) Функционалност сперматозоида праћењем % сперматозоида који су прошли акрозомску реакцију.
- (6) Локализација одабраних протеина у сперматозоидима.
- (7) Концентрација цикличног гуанозин монофосфата (cGMP) у узорцима ткива хипоталамуса, аденохипофизе и надбубрега, као и у узорцима сперматозоида каудалног епидидимиса.
- (8) Концентрација нитрита у ћелијском медијуму и талогу сперматозоида.
- (9) Концентрација АТП-а у сперматозоидима.
- (10) Релативна експресија гена у узорцима ткива хипоталамуса, аденохипофизе и надбубрега, као и у узорцима Лајдигових ћелија и сперматозоида (укупно 49 гена).
- (11) Релативна експресија потеина (укупно 9).

На крају поглавља су наведене статистичке анализе коришћене за обраду података.

V поглавље: РЕЗУЛТАТИ (74 стране, 54 слике, 3 табеле).

Резултати су приказани у форми слика или табела које су детаљно описане. Свака слика/табела садржи детаљну легенду. Нивои статистичке значајности разлика су јасно дефинисани и видљиви. Резултати приказују 11 различитих параметара: нивое хормона (LH, андрогени, адреналин, кортикостерон) у циркулацији; функционалност сперматозоида праћењем % сперматозоида који су прошли акрозомску реакцију; локализацију главних маркера митохондријалне динамике као и сигналних молекула који

регулишу митохондријалну динамику и функционалност сперматозоида; концентрацију cGMP-а у узорцима ткива хипоталамуса, аденохипофизе и надбубрега, као и у узорцима сперматозоида каудалног епидидимуса; концентрацију нитрита у ћелијском медијуму и талогу сперматозоида; концентрацију АТП-а у сперматозоидима; експресију транскриптата 14 различитих гена у ткиву хипоталамуса, 15 различитих гена у ткиву аденохипофизе, 14 различитих гена у ткиву надбубрега, 14 различитих гена у Лајдиговим ћелијама и 49 различитих гена у сперматозоидима; експресију 6 различитих протеина у ткиву хипоталамуса, 6 различитих протеина у ткиву аденохипофизе и 5 различитих протеина у сперматозоидима. Поглавље резултати је подељено на 8 потпоглавља, сходно специфичним циљевима.

(1) Карактеризација молекуларних профила митохондријалне биогенезе који се развијају као механизам адаптације специфичних типова ћелија репродуктивне осовине мужјака пацова излаганих акутном и понављаном психофизичком стресу.

Приказани су и описани резултати који показују да имобилизациони стрес у трајању од два сата ремети нивое хормона стреса, тестостерона и LH у циркулацији. Такође, наведени тип стреса ремети експресију маркера митохондријалне биогенезе у хипоталамусу, аденохипофизи и надбубрежној жлезди. Испитивање *ex vivo* ефекта хормона стреса хидрокортизона, самог или у комбинацији са блокатором глюкокортикоидних рецептора показује да овај хормон не утиче значајно на експресију већине маркера митохондријалне биогенезе у Лајдиговим ћелијама. Понављани психофизички стрес у трајању од три сата повећава ниво хормона стреса у циркулацији, али смањује ниво андрогена као и функционалност сперматозоида (% сперматозоида који су прошли акрозомску реакцију), ниво АТП-а и број сперматозоида. Даљи резултати испитивања *ex vivo* стимулације сперматозоида хормонима стреса, адреналином и хидрокортизоном, показују смањење функционалности сперматозоида и промене транскрипционих профила маркера митохондријалне динамике. У овом подпоглављу приказана је и локализација главних маркера митохондријалне динамике као и сигналних молекула који регулишу митохондријалну динамику у сперматозоидима. Такође, транскрипциони профили маркера митохондријалне динамике и функционалности, као и транскрипциони профили маркера cAMP и MAPK сигналних путева значајно су промењени у сперматозоидима стресираних пацова. Добијени резултати су приказани графички као и табеларно.

(2) Карактеризација молекуларних профила митохондријалне динамике који се развијају као механизам адаптације сперматозоида током опоравка организма од акутног стреса (најчешћег типа стреса у хуманој популацији), у различитим периодима у току дана.

Приказани су и описани резултати који показују да акутни психофизички стрес имобилизацијом смањује број и функционалност сперматозоида у различитим временским тачкама након стреса. Транскрипциони профили 20 од 22 испитивана маркера митохондријалне динамике и функционалности значајно су промењени у сперматозоидима акутно стресираних пацова чак и након 20 сати опоравка. Такође, транскрипциони профили 20 од 22 испитивана маркера сигналних путева који регулишу број и функционалност сперматозоида, као и митохондријалну динамику и функционалност, значајно су промењени у сперматозоидима акутно стресираних пацова и

20 сати након опоравка. Добијени резултати су приказани графички, као и тзв. „Heat maps“ и табеларно.

(3) Карактеризација молекуларних профила митохондријалне динамике који се развијају као механизам адаптације сперматозоида током понављаног стреса организма у различитим временским тачкама у току дана.

У овом потпоглављу су приказани и описани резултати који показују да понављани имобилизациони стрес у различитим периодима у току 24 сата смањује број и функционалност сперматозоида. Понављани имобилизациони стрес у различитим периодима у току 24 сата такође ремети транскрипционе профиле 20 од 22 испитивана маркера митохондријалне динамике и функционалности, као и 20 од 22 испитивана маркера сАМР и МАРК сигналних путева. Добијени резултати су приказани графички, као и тзв. „Heat maps“ и табеларно.

(4) Ефекат поремећене хомеостазе тестостерона старих мужјака пацова на молекуларне профиле маркера биогенезе и фузије/архитектуре митохондрија као и маркере сигналних путева који их регулишу у сперматозоидима.

У овом потпоглављу су приказани и описани резултати који показују да старење организма доводи до смањења броја сперматозоида изолованих из каудалних епидидимиса, док не утиче на промену концентрације нитрита и сGMP-а. Резултати још показују да су транскрипциони профиле 13 од 17 испитиваних маркера митохондријалне биогенезе, фузије/архитектуре као и функционалности митохондрија промењени у сперматозоидима старих пацова. Такође, транскрипциони профиле 17 од 22 испитивана маркера сигналних путева који регулишу митохондријалну динамику и функционалност (сАМР и МАРК сигнални путеви) промењени су у сперматозоидима старих пацова. Добијени резултати су приказани графички.

(5) Ефекат поремећене хомеостазе тестостерона хипогонадалних мужјака пацова на молекуларне профиле маркера биогенезе и фузије/архитектуре митохондрија као и маркере сигналних путева који их регулишу у сперматозоидима.

Приказани су и описани резултати који показују да хипогонадизам ремети концентрацију нитрита и ниво сGMP-а у сперматозоидима изолованих из каудалних епидидимиса. Такође, транскрипциони профиле 9 од 16 испитиваних маркера митохондријалне биогенезе, фузије/архитектуре као и функционалности митохондрија промењени су у сперматозоидима хипогонадалних пацова. Резултати још показују да хипогонадотропни хипогонадизам мужјака пацова доводи до повећања експресије 12 од 22 испитивана маркера сигналних молекула који регулишу процесе митохондријалне динамике и функционалности у сперматозоидима. Добијени резултати су приказани графички.

(6) Ефекат хипогонадизма адултних мишева који је проузрокован кондиционалном делецијом *Insr* и *Igflr* гена у стероидогеним ткивима на број и функционалност сперматозоида.

Приказани су и описани резултати који показују да делеција *Insr* и *Igflr* гена у стероидогеним ткивима смањује број и функционалност (% сперматозоида који су прошли акрозомску реакцију) сперматозоида изолованих из каудалних епидидимиса. Добијени резултати су приказани графички.

(7) Ефекат *in vivo* третмана инхибитором PDE5, Силденафилом, старих мужјака пацова на број сперматозоида као и молекуларне профиле експресије транскрипата за маркере биогенезе и фузије/архитектуре митохондрија као и маркере сигналних путева који их регулишу у сперматозоидима.

У овом потпоглављу су приказани и описани резултати који показују да понављани третман Силденафилом старих мужјака пацова повећава број сперматозоида каудалних епидидимиса. Акутни третман Силденафилом мења 9 од 16 испитиваних маркера митохондријалне биогенезе, фузије/архитектуре као и функционалности митохондрија у сперматозоидима, док понављани третман Силденафилом мења 3 од 15 наведених маркера у сперматозоидима. Резултати такође показују да акутни третман Силденафилом мења 2 од 21 испитивани маркер сАМР и МАРК сигналних путева, који регулишу процесе митохондријалне динамике и функционалности у сперматозоидима, док са друге стране понављани третман Силденафилом мења 7 од 21 испитивани маркер сАМР и МАРК сигналних путева у сперматозоидима. Испитивање ефекта *ex vivo* примене Силденафила показује да инхибитор PDE5 ремети концентрацију нитрита у ћелијском медијуму као и у садржају сперматозоида. Добијени резултати су приказани графички.

(8) Ефекат *in vivo* активације АМРК третманом Метформином, леком за дијабетес тип 2, на профиле експресије транскрипата за маркере биогенезе и фузије/архитектуре митохондрија као и маркере сигналних путева који их регулишу у сперматозоидима.

У овом потпоглављу су приказани и описани резултати који показују да су концентрација нитрита и ниво сGMP-а промењени у сперматозоидима пацова након тромесечног третмана леком за дијабетес тип 2, Метформином. Тромесечни третман Метформином мења експресију 12 од 16 испитиваних маркера митохондријалне биогенезе, фузије/архитектуре као и функционалности митохондрија у сперматозоидима, али и 17 од 22 испитивана маркера сАМР и МАРК сигналних путева, који регулишу процесе митохондријалне динамике и функционалности у сперматозоидима. Шестомесечни *in vivo* третман активације АМРК Метформином повећава број сперматозоида али смањује функционалност сперматозоида (% сперматозоида који су прошли акрозомску реакцију). Такође, понављани третман Метформином у трајању од шест месеци мења 7 од 17 испитиваних маркера митохондријалне биогенезе, фузије/архитектуре као и функционалности митохондрија у сперматозоидима, али и 7 од 21 испитивани маркер сАМР и МАРК сигналних путева, који регулишу процесе митохондријалне динамике и функционалности у сперматозоидима. Добијени резултати су приказани графички.

VI поглавље: ДИСКУСИЈА (26 страна, 3 слике).

Текст дискусије је подељен у седам целина, које, употпуњене литературним подацима, утемељују добијене резултате у општи скуп научних знања.

(1) Стрес мења транскрипционе профиле маркера митохондријалне биогенезе у хипоталамусу, аденохипофизи, надбубрежној жлезди као и сперматозоидима адултних пацова.

(2) Акутни стрес са различитим периодима опоравка мења транскрипционе профиле маркера митохондријалне биогенезе, фузије/архитектуре, као и маркера сигналних путева сАМР и МАРК у сперматозоидима адултних пацова.

- (3) Понављани имобилизациони стрес у различитим периодима у току дана мења транскрипционе профиле маркера митохондријалне биогенезе, фузије/архитектуре, као и маркера сигналних путева сАМР и МАРК у сперматозоидима адултних пацова.
- (4) Старачки хипогонадизам мења транскрипционе профиле маркера митохондријалне биогенезе, фузије/архитектуре, као и маркера сигналних путева сАМР и МАРК у сперматозоидима.
- (5) Хипогонадотропни хипогонадизам мења транскрипционе профиле маркера митохондријалне биогенезе, фузије/архитектуре, као и маркера сигналних путева сАМР и МАРК у сперматозоидима.
- (6) Акутни и понављани *in vivo* третмани Силденафилом мењају транскрипционе профиле маркера митохондријалне биогенезе, фузије/архитектуре, као и маркера сигналних путева сАМР и МАРК у сперматозоидима старих пацова.
- (7) Понављани *in vivo* третман Метформином мења транскрипционе профиле маркера митохондријалне биогенезе, фузије/архитектуре, као и маркера сигналних путева сАМР и МАРК у сперматозоидима адултних и старих пацова.

Наведен је значај резултата са аспекта расветљавања утицаја поремећене хомеостазе циркулишућих андрогена у регулацији експресије транскрипционих профила маркера митохондријалне динамике, као и маркера регулаторних сигналних путева (сАМР и МАРК), а у циљу адаптације специфичних ћелијских типова репродуктивне осовине. Ово поглавље садржи и шематске приказе (графичке абстракте објављених радова) који сумирају добијене резултате.

VII поглавље: ЗАКЉУЧЦИ (7 страна, 3 слике).

Закључци су изведени у складу са постављеним циљевима и добијеним резултатима. Општи закључак је да у условима поремећене хомеостазе циркулишућих андрогена долази до промене транскрипционих профила маркера митохондријалне динамике, као и маркера регулаторних сигналних путева (сАМР и МАРК), а у циљу адаптације специфичних ћелијских типова репродуктивне осовине.

- (1) Акутни и понављани психофизички стрес мењају профиле маркера митохондријалне динамике, те на тај начин стварају један од механизма адаптације специфичних типова ћелија у репродуктивном систему мужјака.
- (2) Током опоравка организма од акутног психофизичког стреса мењају се молекуларни профили маркера митохондријалне динамике, те се на тај начин ствара један од механизма адаптације сперматозоида.
- (3) Понављани психофизички стрес организма примењен у различитим временским тачкама у току дана мења молекуларне профиле маркера митохондријалне динамике, и на тај начин ствара један од механизма адаптације сперматозоида.
- (4) Стареење организма мења молекуларне профиле маркера митохондријалне биогенезе, те на тај начин ствара један од механизма адаптације сперматозоида.
- (5) Хипогонадотропни хипогонадизам мења молекуларне профиле маркера митохондријалне биогенезе, те на тај начин ствара један од механизма адаптације сперматозоида.
- (6) Хипогонадизам адултних мишева који је проузрокован кондиционалном делецијом гена за инсулински и IGF1 рецептор у стероидогеним ћелијама мења број и функционалност сперматозоида.

(7) Акутни и понављани *in vivo* третман старих мужјака пацова Силденафилом мења молекуларне профиле маркера митохондријалне биогенезе, те на тај начин ствара један од механизма адаптације сперматозоида.

(8) *In vivo* третман Метформином, леком за дијабетес тип 2, адултних и старих мужјака пацова мења молекуларне профиле маркера митохондријалне биогенезе, те на тај начин ствара један од механизма адаптације сперматозоида.

Ово поглавље садржи и шематске приказе (графичке абстракте објављених радова) који сумирају добијене резултате.

VIII поглавље: ЛИТЕРАТУРА (15 страна).

Ово поглавље представља списак од укупно 197 литературних навода који чине рецензиране научне публикације као и оригинални научни радови, а највећи број литературних навода су радови објављени у току последњих година у релевантним научним часописима. Евидентни су и литературни наводи из текуће године.

Радови и конгресна саопштења из докторске дисертације

Б1. Радови у часописима међународног значаја

1. **Starovlah IM**, Radovic Pletikosic SM, Kostic TS, Andric SA. (2020) Reduced spermatozoa functionality during stress is the consequence of adrenergic-mediated disturbance of mitochondrial dynamics markers. *Sci Rep* 10: 16813, **M21**, <https://pubmed.ncbi.nlm.nih.gov/33033347/>
2. **Starovlah IM**, Radovic Pletikosic SM, Kostic TS, Andric SA. (2021) Mitochondrial dynamics markers and related signaling molecules are important regulators of spermatozoa number and Functionality. *Int J Mol Sci* 22, 5693, **M21**, <https://pubmed.ncbi.nlm.nih.gov/34071734/>
3. **Starovlah IM**, Radovic Pletikosic SM, Tomanic TM, Medar MLJ, Kostic TS, Andric SA (2022) Spermatozoal mitochondrial dynamics markers and other functionality-related signaling molecules exert circadian-like response to repeated stress of whole organism. *Cells* 11, 993, **M21**, <https://pubmed.ncbi.nlm.nih.gov/35326444/>

Б2. Конгресна саопштења на скуповима међународног значаја

1. **Starovlah IM**, Radovic Pletikosic SM, Kostic TS, Andric SA (2021) Stress reduces spermatozoa functionality through adrenergic-mediated disturbance of mitochondrial dynamics markers. *International BioScience Conference (IBSC)*, Virtual meeting, 25-26.11.2021. **M34**
2. **Starovlah IM**, Radovic Pletikosic SM, Kostic TS, Andric SA (2021) Reduced spermatozoa functionality during stress is the consequence of adrenergic-mediated disturbance of mitochondrial dynamics. *The Fifth General Meeting of the European Research Network on Signal Transduction-Bridging Perspectives and Networking in Signal Transduction Research, COST-ERNEST*. Bari, Italy, 4-8.10.2021. **M34**
3. **Starovlah IM**, Radovic Pletikosic SM, Kostic TS, Andric SA (2021) Repeated stress decreases number and functionality of spermatozoa due to disturbed transcriptional profiles of mitochondrial dynamics markers and signaling molecules regulating both,

mitochondrial dynamics and spermatozoa number and functionality. *Sexuality in Europe-COST-ESMN*. Salzburg, Austria, 22-23.10.2021. **M34**

4. **Starovlah IM**, Radovic Pletikosic SM, Kostic TS, Andric SA (2021) Mitochondrial dynamics markers and related signaling molecules are important regulators of spermatozoa number and functionality. *I Reproductive Science & Fertility Virtual Summit (WebRePRO)*, Virtual meeting, 26-27.06.2021. **M34**
 5. **Starovlah IM**, Radovic SM, Kostic TS, Andric SA (2019) Mitochondrial dynamic markers and acrosomal reaction are disturbed in spermatozoa from stressed adult rats. *14th Conference on Mitochondrial Physiology: Mitochondrial function: changes during life cycle and in noncommunicable diseases - COST MitoEAGLE perspectives and MitoEAGLE WG and MC Meeting*. Belgrade, Serbia 13-16.10.2019. **M34**
 6. Andric SA, Radovic SM, **Starovlah IM**, Kostic TS (2019) Mitochondrial Dynamic and Acrosomal Reaction are Disturbed In Spermatozoa from Stressed Adult Rats. *52nd Annual conference "Beyond Possible: Remarkable Transformation of Reproductive Biology*. San Jose, San Jose, United States 18-21.07.2019. **M34**
 7. **Starovlah IM**, Radovic SM, Patricio D, Kostic TS, Andric SA (2018) Mitochondrial dynamic and acrosomal reaction are disturbed in spermatozoa from stressed adult rats. *4th congress of physiological sciences of Serbia with international participation. Current trends in physiological sciences: from cell signals to the biology of aging*. Nis, Serbia 19-23.09.2018. **M34**
 8. **Starovlah IM**, Radovic SM, Patricio D, Kostic TS, Andric SA (2018) Profile of mitochondrial biogenesis markers and acrosomal reaction are disturbed in spermatozoa from stressed adult rats. *The 18th FEBS Young Scientists' Forum and The 43rd FEBS Congress "Biochemistry Forever"*. Prague, Czech Republic 4-12.07.2018. **M34**
 9. **Starovlah IM**, Radovic SM, Kostic TS, Andrc SA (2016) Stress causes different expression of mitochondrial biogenesis markers in rat steroid-producing cells of adrenal gland and testes. *41. FEBS Congress Molecular and Systems Biology for Better Life*, Ephesus, 3-8.09.2016. **M34**
 10. **Starovlah IM**, Radovic SM, Kostic TS, Andric SA (2016) Stress causes different expression of mitochondrial biogenesis markers in rat steroid-producing cells of adrenal gland and testes. *IUBMB/IUPAB/IUPS Joint Advanced School "Receptors and Signaling"*, Spetses island, Greece, 23-27.05.2016. **M34**
 11. **Starovlah IM**, Radovic SM, Kostic TS, Andric SA (2015) Opposite expression of mitochondrial biogenesis markers in steroid-producing cells of adrenal gland and testes from stressed adult rats. *3rd Congress of the Serbian Society for Mitochondrial and Free Radical Physiology (SSMFRP), Redox Medicine: Reactive Species Signaling, Analytical Methods, Phytopharmacy, Molecular Mechanisms of Disease*. Belgrade, Serbia, 26.09.2015. **M34**
- Б3. Конгресна саопштења на скуповима домаћег значаја
1. **Starovlah IM**, Radovic SM, Kostic TS, Andric SA (2019) Signaling pathways regulating the mitochondrial dynamic and acrosomal reaction are disturbed in spermatozoa from stressed adult rats. Third joint meeting of National Physiological Societies *"Health risk, nutrition and dietary supplements: Oxidative stress and polyphenols in the heart of Serbian wineries"*, Oplenac, Topola, Serbia 20-22.06.2019. **M64**

2. **Starovlah IM**, Radovic SM, Patricio D, Kostic TS, Andric SA (2018) Transkripcioni profil markera mitohondrijalne biogeneze i akrozomska reakcija su poremećeni u spermatozoidima stresiranih adultnih pacova. *Drugi kongres biologa Srbije: Osnovna i primenjena istraživanja metodika nastave*. Kladovo, Srbija. 25-30.09.2018. **M64**
3. **Starovlah IM**, Radovic SM, Patricio D, Kostic TS, Andric SA (2017) Profile of mitochondrial biogenesis markers and acromosomal reaction are disturbed in spermatozoa from stressed adult rats. *First Congress of Molecular Biologist of Serbia (CoMBoS)*. Belgrade, Serbia. 20.-22.09.2017. **M64**
4. **Starovlah IM**, Radovic SM, Kostic TS, Andric SA (2017) The number of spermatozoa, acrosomal reaction and expression of mitochondrial biogenesis markers are disturbed in spermatozoa from stressed adult rats. *I. Joint Meeting of National Physiological Societies "New Perspectives in Physiological Research – Young Investigator Forum"*. Subotica 25-27.05.2017. **M64**
5. **Starovlah IM**, Radović SM, Kostić TS, Andric SA (2015) Stress causes opposite transcription profile of *Ppargc1* the main mitochondrial biogenesis regulator in testicular and adrenal steroidogenic tissue of adult male rats. *III Symposium of biologists and ecologists of Republic of Srpska*. Banja Luka, Bosna i Hercegovina. 12.-14.11.2015. **M64**

Провера оригиналности докторске дисертације

Резултати електронске провере докторске дисертације показују да индекс подударности износи 12%. Детаљним увидом у Извештај утврђено је да су појединачна подударања са једним извором у опсегу од 5%, једним извором од 2%, три извора у опсегу од 1%, док су остала подударања мања од 1%. Уочене подударности текста се односе на: захвалницу, сажетак на енглеском језику, списак радова у којима су приказани резултати докторске дисертације као и списак пројеката којима је финансирана израда дисертације, поједине речи и фразе из увода и прегледа литературе, стандардне скраћенице и енглеске називе, списак хемикалија као и речи из описа метода, библиографске податке о коришћеној литератури и њихово навођење у тексту, поједине речи и фразе из описа резултата као и легенди фигура, поједине речи из поглавља дискусије и закључака, као и коришћење кратких фраза уобичајених у српском језику, што све припада групи нужног подударања и у складу је са чланом 9. Правилника о поступку провере оригиналности докторских дисертација које се бране на Универзитету у Београду („Гласник Универзитета у Београду“ број 201/18).

Када се све изнето узме у обзир, извештај указује на оригиналност докторске дисертације кандидата Исидоре Старовлах, под насловом *”Митохондријална биогенеза као механизам адаптације специфичних типова ћелија репродуктивне осовине”*, те се прописани поступак припреме за њену одбрану може наставити.

Мишљење и предлог Комисије

Докторска дисертација кандидаткиње Исидоре М Старовлах, под насловом “Митохондријална биогенеза као механизам адаптације специфичних типова ћелија репродуктивне осовине” представља вредан и аутентичан научни рад који доприноси бољем разумевању експресије молекуларних маркера митохондријалне динамике али и маркера сАМР и МАРК сигналних путева, који су један од механизма адаптације сперматозоида на поремећену хомеостазу циркулишућих андрогена. Јасно дефинисане циљеве, који су засновани на добром познавању научне проблематике, пратила је успешна реализација истраживачког поступка. Поред доприноса основним истраживањима, резултати имају директан транслациони аспект. Директни транслациони аспект је потврђен на узорцима хуманих сперматозоида и добијени резултати су у сагласности са резултатима приказаним у овој дисертацији. Потврда иновативног потенцијала резултата дисертације је пројекат доказа концепта EUTech4PoC Европске Уније који је заснован на резултатима ове докторске дисертације и приказан као пример добре праксе EUTech4PoC пројеката Европске Уније.

На основу изложених чињеница у вези докторске дисертације Исидоре Старовлах које указују на квалитет и научни допринос постигнутих резултата, имајући у виду да су задаци постављени у циљу овог истраживања испуњени и верификовани кроз објављене радове у часописима међународног значаја (3xM21), Комисија предлаже Наставно-научном већу Биолошког факултета Универзитета у Београду да прихвати овај извештај и омогући Исидори Старовлах да јавно одбрани своју докторску дисертацију.

КОМИСИЈА:

У Београду, 13.05.2022. године

др Татјана Костић, редовни професор,
Универзитет у Новом Саду – Природно-математички факултет

др Александра Кораћ, редовни професор,
Универзитет у Београду – Биолошки факултет

др Соња Каишаревић, редовни професор,
Универзитет у Новом Саду – Природно-математички факултет

др Небојша Јаснић, ванредни професор,
Универзитет у Београду – Биолошки факултет