

NAUČNOM VEĆU MEDICINSKOG FAKULTETA
UNIVERZITETA U BEOGRADU

Na sednici Naučnog veća Medicinskog fakulteta u Beogradu, održanoj dana 03.11.2014. godine, broj 4600/11, imenovana je komisija za ocenu završene doktorske disertacije pod naslovom: „**Određivanje polimorfizma lokusa humanih leukocitnih antigena u populaciji potencijalnih davalaca matičnih ćelija hematopoeze u Srbiji**“ kandidata mr sci. med. dr Zorane Andrić, zaposlene u Institutu za transfuziju krvi Srbije u Beogradu kao šef Odseka za molekularnu tipizaciju Odeljenja za tipizaciju tkiva. Mentor za izradu doktorske disertacije je prof. dr Dušan Popadić, Medicinski fakultet Univerziteta u Beogradu.

Komisija za ocenu završene doktorske disertacije imenovana je u sastavu:

Prof. dr Nada Suvajdžić-Vuković, profesor Medicinskog fakulteta Univerziteta u Beogradu

Prof. dr Ivana Novaković, profesor Medicinskog fakulteta Univerziteta u Beogradu

Prof. dr Bela Balint, profesor na Vojnomedicinskoj akademiji u Beogradu

Na osnovu analize priložene doktorske disertacije, komisija za ocenu završene doktorske disertacije jednoglasno podnosi Naučnom veću Medicinskog fakulteta sledeći

IZVEŠTAJ

A) Prikaz sadržaja doktorske disertacije

Doktorska disertacija mr sci. med. dr Zorane Andrić napisana je na 119 strana i podeljena je na sledeća poglavlja: uvod, ciljevi rada, materijal i metode, rezultati, diskusija, zaključci i literatura. U disertaciji se nalazi 6 slika, 39 tabela i tri grafikona. Doktorska disertacija sadrži sažetak na srpskom i engleskom jeziku, biografiju kandidata, podatke o komisiji i spisak skraćenica korišćenih u tekstu.

U **Uvodu** je dat kratak istorijat otkrića sistema humanih leukocitnih antigena (HLA), zatim je opisana organizacija gena koji kodiraju HLA i način nasleđivanja, kao i biohemijska struktura i biološka uloga antigena klase I i klase II HLA. Navedene su metode HLA tipizacije i opisani su najsavremeniji pojmovi nomenklature alela HLA. Dat je prikaz porekla i značaja polimorfizma sistema HLA, uz poseban osvrt na populacione studije polimorfizma HLA. Detaljno je opisan značaj HLA u transplantaciji matičnih ćelija hematopoeze (MČH), dat je pregled dosadašnjih

saznanja u izboru davaoca MČH na osnovu HLA tipizacije i prikazan značaj registara davalaca MČH

Ciljevi rada su precizno definisani. Cilj je bio da se ustanovi učestalost alelskih grupa za lokuse HLA-A, HLA-B, HLA-C i HLA-DRB1, učestalost očekivanih haplotipova i učestalost alela u HLA-A, HLA-B, HLA-C, HLA-DRB1 i HLA-DQB1 lokusima. Kao cilj je navedeno i da se ustanovi stepen genetske sličnosti sa drugim populacijama, kao i da se proceniti optimalni broj davalaca u Registru davalaca kostne srži Srbije.

U poglavlju **Materijal i metode** navedeno je da su ispitivanja rađena u Odeljenju za tipizaciju tkiva Instituta za transfuziju krvi Srbije u Beogradu. Opisane su ispitivane grupe, kao i populacije sa kojima je analizirana genetska sličnost. Retrospektivnom analizom određivana je učestalost alelskih grupa i haplotipova za lokuse HLA-A, HLA-B i HLA-DRB1. Dodatno su određene grupe alela za lokuse HLA-C i HLA-DQ testovima niske rezolucije, a potom su testovima visoke rezolucije dobijeni aleli za lokuse HLA-A, HLA-B, HLA-C, HLA-DRB1 i HLA-DQB1 i urađena analiza učestalosti alela i haplotipova alela. Precizno su opisane metode za izolaciju DNK, a zatim molekularne metode za HLA tipizaciju zasnovane na reakciji lančanog umnožavanja DNK (PCR) upotrebom oligonukleotidnih proba specifičnih za sekvencu (PCR-SSO) i upotrebom prajmera specifičnih za sekvencu (PCR-SSP). Prikazane su statističke metode za dobijanje učestalosti alela i haplotipova, kao i metode za poređenje populacije Srbije sa drugim populacijama.

U poglavlju **Rezultati** detaljno su opisani i jasno predstavljeni dobijeni rezultati. Prvo su prikazani demografski podaci ispitanika, zatim rezultati analize grupa alela HLA i analize alela HLA, rezultati ispitivanja genetske sličnosti sa drugim populacijama i rezultati procene broja davalaca u Registru davalaca kostne srži Srbije.

Diskusija je napisana jasno i pregledno, uz prikaz poređenja rezultata ovog istraživanja sa rezultatima sličnih istraživanja objavljenih u međunarodnim naučnim časopisima, kao i sa rezultatima uporednog pregleda podataka dostupnih u stručnim bazama podataka.

Zaključci sažeto prikazuju najvažnije rezultate koji su proistekli iz rezultata rada i iz kojih se vidi da su ostvareni postavljeni ciljevi.

Korišćena **literatura** sadrži spisak od 211 referenci.

B) Kratak opis postignutih rezultata

Retrospektivnom analizom određivana je učestalost alelskih grupa i haplotipova za lokuse HLA-A, HLA-B i HLA-DRB1. Dodatno su određene grupe alela za lokuse HLA-C i HLA-DQ

testovima niske rezolucije, a potom su testovima visoke rezolucije dobijeni aleli za lokuse HLA-A, HLA-B, HLA-C, HLA-DRB1 i HLA-DQB1 i urađena analiza učestalosti alela i haplotipova alela.

Rezultati ove studije su pokazali učestalosti grupa alela i haplotipova lokusa HLA-A, HLA-B, HLA-C, HLA-DRB1 i HLA-DQB1, kao i udruživanje grupa alela dva lokusa među haplotipovima koji imaju učestalost veću od 1%. Pokazano je da su najčešće grupe alela A*02, A*01, A*03 i A*24 za lokus HLA-A; B*35 i B*51 za lokus HLA-B; C*07, C*04, C*12 i C*06 za lokus HLA-C; DRB1*11, DRB1*13, DRB1*03, DRB1*16 i DRB1*01 za lokus HLA-DRB1; kao i DQB1*03, DQB1*05, DQB1*02 i DQB1*06 za lokus HLA-DQB1, a najčešći haplotipovi tri grupe alela su A*01-B*08-DRB1*03, A*02-B*18-DRB1*11 i A*33-B*14-DRB1*01.

Na osnovu HLA tipizacije testovima visoke rezolucije dobijeni su najučestaliji aleli klase I i klase II HLA u populaciji Srbije i ustanovljen je polimorfizam unutar grupa alela za svaki ispitivani lokus. Takođe, rezultati ove studije su omogućili određivanje najčešćih haplotipova alela HLA u našoj populaciji. Najveći polimorfizam je dokazan za grupu alela HLA-DRB1*04 (6 alela), zatim HLA-A*02 i HLA-DQB1*06 (po 5 alela), HLA-C*07, HLA-DQB1*03 i HLA-DQB1*05 (po 4 alela). Ovom studijom je pokazano da haplotipovi koji imaju najveću neravnotežu udruživanja alela su HLA-DRB1*03:01-DQB1*02:01, HLA-B*52:01-C*12:02, HLA-DRB1*15:02-DQB1*06:01, HLA-B*41:02-C*17:03 i HLA-A*30:04-B*14:01.

Testiranjem održivosti pretpostavke o Hardy–Weinbergovoj ravnoteži HLA lokusa u svakoj od ispitivanih grupa, pokazano je da su odabrane grupe ispitanika u ravnoteži za sve ispitivane lokuse HLA, a analizom demografskih karakteristika pokazano je da odabrana grupa ispitanika reprezentuje populaciju Srbije. Poređenjem sa drugim populacijama, pokazano je da populacija Srbije ima najveći stepen genetske sličnosti sa susednim populacijama, kao i sa populacijama koje žive na području centralnog Balkana.

Na osnovu rezultata učestalosti alela i haplotipova u našoj populaciji, dobijeno je da bi verovatnoća pronalaženja nacionalnog davaoca podudarnog u HLA-A-B-DRB1 iznosila 65% ukoliko bi Registar davalaca kostne srži Srbije imao 100 000 tipiziranih davalaca. Opisano je da dobijeni procenjeni broj davalaca doprinosi donošenju strategije u planiranju aktivnosti prijavljivanja novih davalaca u nacionalni registar.

C) Uporedna analiza doktorske disertacije sa rezultatima iz literature

Retrospektivne analize podataka HLA tipizacija davalaca u registrima davalaca MČH se najčešće koriste kao izvor podataka o polimorfizmu HLA za određenu populaciju (Solberg i sar.,

2008; Gonzalez-Galarza i sar., 2011; Sanchez-Mazas i sar., 2012; Maier i sar., 2013), s obzirom na dostupne rezultate velikog broja ispitanika.

Rezultati kandidata koji se odnose na učestalosti alela i haplotipova su detaljno upoređeni sa podacima iz literature o učestalostima alela i haplotipova drugih populacija. Ispitivanje stepena genetske sličnosti je rađeno u odnosu na 46 populacija na osnovu dostupne učestalosti grupa alela za lokuse HLA-A i HLA-B (Middleton i sar., 2003; Gonzalez-Galarza i sar., 2011). Filogenetsku analizu na osnovu ovako dostupnih podataka su radili i drugi autori (Dunne i sar., 2008; Arrieta-Bolanos i sar., 2011; Rendine i sar., 2012). Na genetsku sličnost grupe ispitanika i sa mediteranskim i sa zapadnoevropskim populacijama ukazuje i prisustvo panevropskog A*01:01-B*08:01-C*07:01-DRB1*03:01-DQB1*02:01 i mediteranskog A*33:01-B*14:02-C*08:02-DRB1*01:02-DQB1*05:01 haplotipa alela kao dva najučestalija haplotipa u našoj populaciji.

Dobijeni podaci o potrebnom broju davalaca u nacionalnom registru su u skladu sa rezultatima Mullera i saradnika (Muller i sar., 2003) koji su dobili da verovatnoća da se pronađe HLA-A-B-DR fenotipski podudaran davalac iznosi oko 66% ako u registru ima 150 000 davalaca, ali da je potrebno 10 000 novih davalaca da bi se ta verovatnoća povećala za 1%.

D) Objavljeni rad koji čini deo doktorske disertacije

Andrić Z, Popadić D, Jovanović B, Jagličić I, Bojić S, Simonović R. HLA-A, -B, -C, -DRB1 and -DQB1 allele and haplotype frequencies in the Serbian population. *Human Immunology* 2014;75: 218–226.

E) Zaključak (obrazloženje naučnog doprinosa)

Doktorska disertacija „Određivanje polimorfizma lokusa humanih leukocitnih antigena u populaciji potencijalnih davalaca matičnih ćelija hematopoeze u Srbiji“ dr Zorane Andrić predstavlja originalni doprinos u određivanju polimorfizma HLA na ovim prostorima. Rezultati ovog rada predstavljaju prvi put prikazane učestalosti alela i učestalosti haplotipova za lokuse HLA-A, HLA-B, HLA-C, HLA-DRB1 i HLA-DQB1 u populaciji Srbije. Takođe, na osnovu dobijenog polimorfizma HLA, ustanovljen je stepen genetske sličnosti sa drugim populacijama i dobijena je procena optimalnog broja davalaca u Registru davalaca kostne srži Srbije. Ustanovljeni polimorfizam HLA je osnov za dalja ispitivanja značaja alela HLA kod različitih grupa bolesnika u našoj populaciji. Dobijena saznanja o stepenu genetske sličnosti sa drugim populacijama ima

značaja u pronalaženju HLA podudarnog davaoca MČH, a dobijeni procenjeni broj davalaca doprinosi donošenju strategije u planiranju aktivnosti nacionalnog registra davalaca MČH.

Ova doktorska disertacija je urađena prema svim principima naučnog istraživanja. Ciljevi su bili precizno definisani, naučni pristup je bio originalan, a metodologija rada je bila savremena. Rezultati su pregledno i sistematično prikazani i diskutovani, a iz njih su izvedeni odgovarajući zaključci koji imaju praktičan značaj.

Na osnovu svega navedenog, i imajući u vidu dosadašnji rad kandidata, Komisija predlaže Naučnom veću Medicinskog fakulteta Univerziteta u Beogradu da usvoji pozitivnu ocenu i da odobri javnu odbranu doktorske disertacije „Određivanje polimorfizma lokusa humanih leukocitnih antigena u populaciji potencijalnih davalaca matičnih ćelija hematopoeze u Srbiji “ kandidata dr Zorane Andrić.

U Beogradu, 01.11.2014.

Mentor:

Prof. dr Dušan Popadić

Članovi Komisije:

Prof. dr Nada Suvajdžić-Vuković

Prof. dr Ivana Novaković

Prof. dr Bela Balint