

Биолошки факултет
Број захтева: 33/115-1
Датум: 15.5.2015.

УНИВЕРЗИТЕТ У БЕОГРАДУ
ВЕЋУ НАУЧНИХ ОБЛАСТИ ПРИРОДНИХ НАУКА

ЗАХТЕВ

за давање сагласности на реферат о урађеној докторској дисертацији за кандидата на докторским студијама

Молимо да, сходно члану 47. ст. 5. тач. 4. Статута Универзитета у Београду ("Гласник Универзитета", број 162/11-пречишћени текст, 167/12, 172/13 и 178/14), дате сагласност на реферат о урађеној докторској дисертацији:

КАНДИДАТ: **Сњежана Ђ. Ромић**

студент докторских студија на студијском програму Биологија, Анимална и хумана физиологија.

пријавио је докторску дисертацију под називом:

„Ефекти естрадиола у срцу пацова са инсулинском резистенцијом изазваном исхраном богатом фруктозом“.

из научне области: Биолошке науке.

Универзитет је дана 26.09.2013. године. својим актом под бр. 02 Број: 61206-4221/2-13 дао сагласност на предлог теме докторске дисертације која је гласила:

„Ефекти естрадиола у срцу пацова са инсулинском резистенцијом изазваном исхраном богатом фруктозом“.

Комисија за оцену и одбрану докторске дисертације образована је на седници одржаној 13.03.2015. год, одлуком Факултета под бр. 33/33-13.03.2015. год. у саставу:

	Име и презиме члана комисије	звање	научна област	Установа у којој је запослен
1.	др Горан Корићанац	научни саветник	молекуларна ендокринологија	Универзитет у Београду- Институт за нуклеарне науке „Винча“
2.	др Небојша Јаснић	доцент	физиологија животиња и човека	Универзитет у Београду- Биолошки факултет
3.	др Татјана Ђулафић	научни сарадник	молекуларна ендокринологија	Универзитет у Београду- Институт за нуклеарне науке „Винча“

Напомена: уколико је члан Комисије у пензији навести датум пензионисања.

Наставно-научно веће факултета прихватило је реферат Комисије за оцену и одбрану докторске дисертације на седници одржаној 15. маја 2015. године.

Декан Биолошког факултета

Проф. др Јелена Кнежевић-Вукчевић

- Прилог:**
1. Реферат комисије са предлогом.
 2. Акт Наставно-научног већа факултета о усвајању реферата
 3. Примедбе дате у току стављања реферата на увид у јавности, уколико је таквих примедби било.
 4. Електронска верзија.



УНИВЕРЗИТЕТ У БЕОГРАДУ
БИОЛОШКИ ФАКУЛТЕТ

Студентски трг 16
11000 БЕОГРАД
Република СРБИЈА
Тел: +381 11 2186 635
Факс: +381 11 2638 500
Е-пошта: dekanat@bio.bg.ac.rs

33/115-15.5.2015.

На основу члана 128. Закона о високом образовању и члана 59. став 1. тачка 1. Статута Универзитета у Београду-Биолошког факултета, Наставно-научно веће Факултета, на VII редовној седници одржаној 15.5.2015. године, донело је

О Д Л У К У

Прихвата се Извештај Комисије за преглед, оцену и одбрану докторске дисертације кандидата:

Сњежане Ромић, под називом:

„Ефекти естрадиола у срцу пацова са инсулинском резистенцијом изазваном исхраном богатом фруктозом“.

Универзитет је дана 26.09.2013. године. својим актом под бр. 02 Број: 61206-4221/2-13 дао сагласност на предлог теме докторске дисертације кандидата.

Радови и конгресна саопштења из докторске дисертације:

Б1. Радови у часописима међународног значаја:

Korićanac G, Tepavčević S, Romić S, Živković M, Stojiljković M, Milosavljević T, Stanković A, Petković M, Kamčeva T, Žakula. Estradiol enhances effects of fructose rich diet on cardiac fatty acid transporter CD36 and triglycerides accumulation. Eur J Pharmacol. 2012 Nov 5;694(1-3):127-34. **M22**

Romić S, Tepavcevic S, Zakula Z, Milosavljevic T, Stojiljkovic M, Zivkovic M, Popovic M, Stankovic A, Koricanac G. Does oestradiol attenuate the damaging effects of a fructose-rich diet on cardiac Akt/endothelial nitric oxide synthase signalling? Br J Nutr. 2013 Jun;109(11):1940-8. **M21**

Koricanac G, Tepavcevic S, Romic S, Milosavljevic T, Stojiljkovic M, Zakula Z. Expression and Cellular Distribution of Glucose Transporters and Alpha Subunits of Na⁺/K⁺-ATPase in the Heart of Fructose-fed Female Rats: The Role of Estradiol. Horm Metab Res. 2014 Feb;46(2):109-15.
M23

Декан Биолошког факултета

Доставити:

- Универзитету у Београду,
- докторанту,
- Стручној служби Факултета.

Проф. др Јелена Кнежевић-Вукчевић

НАСТАВНО-НАУЧНОМ ВЕЋУ БИОЛОШКОГ ФАКУЛТЕТА УНИВЕРЗИТЕТА У БЕОГРАДУ

На V редовној седници Наставно-научног већа Биолошког факултета Универзитета у Београду, одржаној 13.3.2015. године, прихваћен је извештај ментора проф. др Гордане Цвијић и др Горана Корићанца о урађеној докторској дисертацији **Сњежане Ђ. Ромић**, истраживача-сарадника у Институту за нуклеарне науке „Винча“, под насловом „**Ефекти естрадиола у срцу пацова са инсулинском резистенцијом изазваном исхраном богатом фруктозом**“, и одређена је Комисија за преглед и оцену докторске дисертације у саставу др Горан Корићанац, научни саветник, Универзитета у Београду-Институт за нуклеарне науке „Винча“, др Небојша Јаснић, доцент, Универзитета у Београду-Биолошки факултет и др Тијана Ђулафић, научни сарадник, Универзитета у Београду-Институт за нуклеарне науке „Винча“.

Комисија је прегледала урађену докторску дисертацију кандидата/кандидаткиње и Већу подноси следећи

ИЗВЕШТАЈ

Општи подаци о докторској дисертацији:

Докторска дисертација **Сњежане Ромић** под насловом „**Ефекти естрадиола у срцу пацова са инсулинском резистенцијом изазваном исхраном богатом фруктозом**“, написана је на 121 страни, и подељена у 7 поглавља: **Увод** (34 стране), **Циљ** (1 страна), **Материјал и методе** (11 страна), **Резултати** (25 страна), **Дискусија** (23 стране), **Закључак** (1 страна) и **Литература** (26 страна). Рад садржи 287 литературних цитата и 1 *web site* цитат, 2 табеле и 29 слика. Осим тога рад садржи и податке о менторима, резиме на српском и енглеском језику, податке о дисертацији, списак скраћеница, садржај, биографију кандидата и потписане изјаве.

Анализа докторске дисертације:

У тексту **Увода** дисертације кандидат најпре даје преглед података о повећаном уносу фруктозе у савременој хуманој популацији, специфичном метаболизму фруктозе као и повезаности исхране богате фруктозом са развојем метаболичких и кардиоваскуларних поремећаја код људи и експерименталних животиња. Затим описује детаљно молекуларни механизам деловања инсулина и главне сигналне путеве које овај хормон активира, пут PI3K/Akt и пут киназа активираних митогенима (MAPK). У наставку су дати подаци о витално важним процесима у срцу које инсулин регулише, као што су продукција азот монооксида, транспорт јона натријума и калијума, транспорт енергетских супстрата, глукозе и масних киселина у срцу, као и срчани метаболизам масних киселина. Кандидат затим даје детаљан преглед литературних података о феномену и механизму настанка резистенције на инсулин и доводи у везу са повећаним уносом фруктозе. Најзад, колегиница **Ромић** излаже податке о молекуларном механизму деловања естрадиола (геномски и негеномски ефекти), улози естрадиола у регулацији сензитивности ткива на инсулин, као и улози естрадиола у регулацији процеса у срцу у физиолошким и

патофизиолошким условима.

У поглављу **Циљ** дат је кратак преглед литературних података на којима се базира хипотеза дисертације, као и сама хипотеза. Укратко, на основу свега познатог могу се очекивати позитивни ефекти естрадиола на инсулинске сигналне и ефекторне молекуле у срцу у стању инсулинске резистенције изазване исхраном богатом фруктозом, односно естрадиол се може понашати протективно у односу на развој патолошких процеса у срцу.

У поглављу **Материјал и методе** дат је детаљан опис специфичних хемикалија коришћених у експериментима. Такође су исцрпно описане експерименталне групе, дијететски и хормонски третмани животиња. Наведене су све методе коришћене у раду, почев од биохемијских метода мерења концентрације глукозе, триглицерида, масних киселина, инсулина, естрадиола и лептина у циркулацији. Дат је детаљни опис поступка припреме протеина из различитих ћелијских одељака ћелија срца за анализу експресије, фосфорилације или унутарћелијске локализације сигналних и ефекторних молекула регулисаних инсулином. Такође су изложене аналитичке методе електрофорезе на полиакриламидном гелу и *Western blot*-а, које су коришћене у анализи протеина. За анализу липидног профила у срцу коришћена је MALDI-TOF MS метода, којој је претходила екстракција липида из узорака ткива срца. На крају су описане и методе статистичке анализе резултата експеримената.

Централни део докторске дисертације чини поглавље **Резултати**, у коме су изложени добијени резултати илустровани са 26 слика. Добијени резултати се могу укратко сумирати на следећи начин:

Евидентно је да је исхрана обogaћена фруктозом у овој студији довела до развоја инсулинске резистенције, са изразитом хипертриглицеридемијом, која је вероватно последица специфичног метаболизма фруктозе у јетри. Иако третман естрадиолом није спречио развој хипертриглицеридемије, успео је да превенира повећање концентрације инсулина у плазми и развој инсулинске резистенције.

Осим тога, резултати ове студије сугеришу да је исхрана богата фруктозом довела до развоја инсулинске резистенције у срцу оваријектомисаних женки пацова, при чему је селективно утицала на инсулински сигнални пут, где је узроковала значајну супресију метаболичког сигналног пута Акт, док је митогени сигнални пут ERK1/2 остао нетакнут. Естрадиол је успео да превенира неке, али не све, штетне ефекте исхране у базалним и инсулином стимулираним условима.

Уочене промене у фосфорилацији eNOS молекула код женки пацова на исхрани богатој фруктозом, указују на могуће смањење ензимске активности, што може имати за последицу смањену продукцију NO и поремећај у регулацији функције срца. Резултати студије сугеришу и то да естрадиол вероватно може да превенира штетне ефекте исхране на нивоу продукције NO, али у одређеној мери, с обзиром да је естрадиолски третман испољио значајне ефекте само на нивоу активирајуће фосфорилације молекула eNOS.

Исхрана обogaћена фруктозом у овој студији је испољила позитивне ефекте на субјединице Na^+/K^+ -АТРаза, пре свега на нивоу њихове унутарћелијске локализације, што је било изненађујуће. Ефекти исхране су били посебно изражени код $\alpha 1$ -субјединице, међутим промене на нивоу субјединица пумпе, не морају нужно да узрокују промене у активности пумпе и последично контрактилности срчаног мишића. Резултати ове студије показују да естрадиол није успео да превенира већину ефеката исхране богате фруктозом на Na^+/K^+ -АТРаза у срцу пацова на исхрани богатој фруктозом

Резултати ове студије сугеришу да исхрана обogaћена фруктозом води ка смањеном преузимању глукозе и повећаном преузимању масних киселина у срцу оваријектомисаних

женки пацова, углавном преко утицаја на транслокацију транспортера за ове супstrate до плазма мембране, што може да води повећаној потрошњи масних киселина и патологији срца. Естрадиолски третман животиња на исхрани богатој фруктозом је у малој мери превенирао ефекте исхране на преузимање глукозе, док је потенцирао ефекте исхране на преузимање слободних масних киселина, што је резултирало таложењем триглицерида у срцу. Ово указује да на нивоу преузимања супстрата у срцу, естрадиол појачава штетне ефекте фруктозе, што може да има далекосежне последице за срце.

У поглављу **Дискусија** кандидат анализира добијене експерименталне резултате и интерпретира их у светлу релевантних публикованих података уз коришћење одговарајуће литературе. Дискусија даје широк увид у молекуларне механизме штетних ефеката фруктозе на процесе у срцу регулисане инсулином и доводи их у везу са метаболизмом фруктозе у јетри и деловањем фруктозе на друга метаболички активна ткива, као што је масно ткиво. Такође, кандидат, на основу увида у литературу, износи идеје о молекуларном механизму потенцијално протективних ефеката естрадиола и даје објашњење зашто у неким случајевима изостаје позитиван ефекат овог хормона на срце пацова изложених исхрани богатој фруктозом. Најзад, кандидат успешно објашњава наизглед неочекиван ефекат естрадиола на транспорт и метаболизам масних киселина у срцу пацова изложеном резистенцији на инсулин.

У поглављу **Закључак** кандидат истиче најзначајније резултате рада, даје синтезу, и објашњење постигнутих резултата. Главни закључци докторске дисертације су следећи: Резултати студије представљају својеврсну верификацију коришћеног анималног модела (оваријектомисане женке пацова изложене исхрани богатој фруктозом), као модела резистенције на инсулин. Наиме, повећан унос фруктозе изазива повећање концентрације инсулина, лептина и триглицерида у циркулацији и смањење осетљивости на инсулин. У срцу пацова исхрана богата фруктозом ремети пренос инсулинског сигнала преко пута Akt киназе. Што се тиче молекула ефектора регулисаних инсулином, повећани унос фруктозе негативно делује на функционално значајне фосфорилације eNOS, повећава присуство каталитичке субјединице Na^+/K^+ -АТPазе и транспортера за масне киселине CD36, али изазива смањење нивоа транспортера за глукозу GLUT4 и GLUT1 у плазма мембранама ћелија срца. С друге стране, резултати дисертације делимично потврђују прелиминарну хипотезу, указујући да естрадиол има бројне позитивне ефекте у стању резистенције на инсулин (смањује концентрацију инсулина, повећава сензитивност на инсулин, повећава фосфорилације Akt и eNOS на серину, повећава присуство GLUT4 транспортера у плазма мембранама ћелија срца). Резултати пак указују и да овај хормон ипак има ограничен потенцијал да превенира негативне догађаје изазаване исхраном богатом фруктозом (одсуство ефекта естрадиола на концентрацију триглицерида у циркулацији, фосфорилације на треонину Akt и eNOS у срцу, ниво каталитичке субјединице Na^+/K^+ -АТPазе у плазма мембранама итд.). Штавише, естрадиол у комбинацији са повећаним уносом фруктозе изазива појачан транспорт масних киселина у срце и доводи до гомилања триглицерида у овом органу. Сумарно, резултати представљају пре свега значајан допринос фонду знања о молекуларним механизмима деловања естрадиола у стању резистенције на инсулин, са израженим апликативним потенцијалом, с обзиром на честу примену третмана естрадиолом код особа са резистенцијом на инсулин.

Радови и конгресна саопштења из докторске дисертације:

Б1. Радови у часописима међународног значаја

1. Korićanac G, Tepavčević S, Romić S, Živković M, Stojiljković M, Milosavljević T, Stanković A, Petković M, Kamčeva T, Žakula. Estradiol enhances effects of fructose rich diet on cardiac fatty acid transporter CD36 and triglycerides accumulation. Eur J Pharmacol. 2012 Nov 5;694(1-3):127-34. **M22**
2. Romić S, Tepavcevic S, Zakula Z, Milosavljevic T, Stojiljkovic M, Zivkovic M, Popovic M, Stankovic A, Koricanac G. Does oestradiol attenuate the damaging effects of a fructose-rich diet on cardiac Akt/endothelial nitric oxide synthase signalling? Br J Nutr. 2013 Jun;109(11):1940-8. **M21**
3. Koricanac G, Tepavcevic S, Romić S, Milosavljevic T, Stojiljkovic M, Zakula Z. Expression and Cellular Distribution of Glucose Transporters and Alpha Subunits of Na⁺/K⁺-ATPase in the Heart of Fructose-fed Female Rats: The Role of Estradiol. Horm Metab Res. 2014 Feb;46(2):109-15. **M23**

Б2. Радови у часописима домаћег значаја

1. **M**
2. **M**

Б3. Конгресна саопштења на скуповима међународног значаја

1. S. Romić, G. Koricanac, Z. Zakula, S. Tepavcevic, M. Stojiljkovic, T. Culafic, S. Zorad. Effects of estradiol on fatty acid transporter CD36 and glucose transporter GLUT4 in the heart of fructose-fed female rats. 11th New Frontiers in Basic Cardiovascular Research. Smolenice Castle, Slovak Republik, June 15-18, 2014. **M34**
2. **M**

Б4. Конгресна саопштења на скуповима домаћег значаја

1. **M**
2. **M**

Мишљење и предлог Комисије:

На основу анализе докторске дисертације кандидата **Сњежане Ромић**, под насловом „Ефекти естрадиола у срцу пацова са инсулинском резистенцијом изазваном исхраном богатом фруктозом“, Комисија закључује да резултати представљају оригиналан и значајан допринос разумевању суштине ефеката естрадиола у околностима резистенције на инсулин у срцу пацова, за које на основу литературних података постоје очекивања да имају кардиопротективну природу. Треба посебно нагласити да тема дисертације осим биолошког поседује и посредни медицински аспект. Клинички значај ове студије везан је за патофизиолошка стања која укључују резистенцију на инсулин (гојазност, метаболички синдром, дијабетес типа 2 и др.) у којима се примењује третман естрадиолом (нпр. супституциона терапија код жена у постменопаузи).

Такође, треба истаћи да је докторанд **Сњежана Ромић** током израде дисертације показала изузетну истраживачку зрелост, висок степен самосталности, као и неопходну способност

за реализацију комплексних научних студија. Комисија констатује да кандидат поседује солидно познавање теоријских основа научне области, да је избор методологије у дисертацији адекватан, а такође жели да истакне да су у написаној дисертацији резултати јасно изложени и интерпретирани у складу са постојећом литературом. Најзад, најзначајнији резултати студије су језгровито сумирани и успешно објашњени. Квалитет публикација у којима су резултати дисертације изложени додатно потврђује мишљење Комисије да резултати тезе представљају значајан помак у атрактивној области међухормонских интеракција у срцу, конкретно ефеката естрадиола на виталне срчане процесе у стању резистенције на инсулин.

На основу увида у истраживања и постигнуте резултате, као и у сам текст докторске дисертације, Комисија закључује да су циљеви постављени у пријави теме за израду докторске дисертације испуњени и има задовољство да предложи Наставно-научном већу Биолошког факултета, Универзитета у Београду, да прихвати позитивну оцену докторске дисертације **Сњежане Ромић** под насловом „Ефекти естрадиола у срцу пацова са инсулинском резистенцијом изазваном исхраном богатом фруктозом“ и омогући кандидату јавну одбрану рада.

КОМИСИЈА:

др Горан Корићанац, научни саветник,
Универзитета у Београду-Институт за
нуклеарне науке „Винча“

др Небојша Јаснић, доцент, Универзитета у
Београду-Биолошки факултет

др Тијана Ђулафић, научни сарадник,
Универзитета у Београду-Институт за
нуклеарне науке „Винча“

У Београду, 27.3.2015. године.