

НАСТАВНО-НАУЧНОМ ВЕЋУ БИОЛОШКОГ ФАКУЛТЕТА УНИВЕРЗИТЕТА У БЕОГРАДУ

На III редовној седници Наставно-научног већа Биолошког факултета Универзитета у Београду, одржаној 09.12.2016. године, прихваћен је извештај ментора проф. Александре Кораћ и проф. Аните Радовановић, о урађеној докторској дисертацији **Јелене Б. Даниловић Луковић**, под насловом „Утицај смањене функције штитасте жлезде мајки на развој јајника младунаца пацова у раном постнаталном периоду“ и одређена је Комисија за преглед и оцену докторске дисертације у саставу: др Александра Кораћ, редовни професор, Универзитет у Београду-Биолошки факултет, др Анита Радовановић, ванредни професор, Универзитет у Београду-Факултет ветеринарске медицине, др Маја Чакић-Милошевић, доцент, Универзитет у Београду-Биолошки факултет и др Милица Ковачевић Филиповић, редовни професор, Универзитет у Београду-Факултет ветеринарске медицине.

Комисија је прегледала урађену докторску дисертацију кандидата и Већу подноси следећи

ИЗВЕШТАЈ

Општи подаци о докторској дисертацији:

Докторска дисертација Јелене Б. Даниловић Луковић, под насловом „Утицај смањене функције штитасте жлезде мајки на развој јајника младунаца пацова у раном постнаталном периоду“, написана је на 129 страна и садржи 28 слика, 3 табеле и 451 литературни навод. Теза је подељена у 7 поглавља: *Увод, Циљеви, Материјал и методи, Резултати, Дискусија, Закључци и Литература*. Поред наведеног, дисертација садржи: *Захвалницу, Листу скраћеница и Садржај*, као и шест прилога.

Анализа докторске дисертације:

У докторској дисертацији кандидат Јелена Б. Даниловић Луковић приказала је хистолошко ремоделирање јајника конгенитално хипотироидних неонаталних пацова старости 0, 4 и 7 дана и дала претпостављене ћелијске и молекулске механизме који воде поремећеној оогенези и нарушавају репродуктивни капацитет у адултном добу.

У поглављу *Увод*, детаљно су описане структура штитасте жлезде, синтеза и функција тироидних хормона. С обзиром на то да је гравидитет „друго стање“ организма мајке са промењеним тироидним статусом и да се механизми доспевања тироидних хормона до циљних ћелија, нарочито код ембриона и фетуса разликују у односу на адултно физиолошко стање, упоредо су приказани познати и литературно описани утицаји које тироидни хормони остварују код адултних пацова и у гравидитету.

Тироидни хормони имају изузетно важну улогу у нормалном одвијању процеса фоликулогенезе. Укупан фонд фоликула формира се 3-4. дана постнатално код пацова, када се завршава прва фаза мејотичког сазревања јајне ћелије и она мирује у диктиотену све до преовулаторног таласа гонадотропина, а формирање првих секундарних фоликула почиње 7. дана постнатално. Познато је да хипотироидизам мајки у току гравидитета може имати бројне последице по потомство у смислу развоја органа и органских система, нарочито нервног, мишићног и кардиоваскуларног система, али су сазнања о његовом утицају на репродуктивни систем непотпуна. Наиме, досадашња истраживања су

показала да долази до промена у сазревању репродуктивног система од јувенилног до адултног периода, али није разјашњено да ли су те промене последице поремећаја насталих пре и/или у току формирања фоликула.

Зато је кандидат поставила за *Циљ* докторске дисертације испитивање утицаја хипотироидизма мајки на кључне аспекте раног развоја јајника у неонаталном периоду као што су улазак оогонија у мејозу I, расформирање нестова и формирање примордијалних фоликула, који су од есенцијалног значаја за очување нормалне функције репродуктивног тракта у адултном добу.

Експериментални приступ детаљно је описан у поглављу *Материјал и методи*. Коришћене су полно зреле женке пацова старости 2,5 месеца соја Albino Oxford и њихови потомци женског пола. Конгенитални хипотироидизам потомака и хипотироидизам мајки изазиван је применом 6-п-пропил-2-тиоурацила (ПТУ) током гравидитета и лактације, а тироидни статус мајки и младунаца након третмана процењиван је и потврђиван одређивањем концентрације тироидних хормона RIA методом и индекса активације штитасте жлезде младунаца. Утицај хипотироидизма на пролиферацију и диференцијацију ооцита и фоликулогенезу у јајнику младунаца пацова нултог, четвртог и седмог дана старости анализиран је на основу хисто-морфолошких промена у јајницима на нивоу светлосне микроскопије рутинским хистолошким, хистохемијским и имунохистохемијским бојењем оогонија, ооцита и гранулоза ћелија; ултраструктурних карактеристика оогонија и ооцита на нивоу електронске микроскопије и морфометријско-стереолошких промена јајника на нивоу светлосне и електронске микроскопије.

Ова истраживања, како је показано у поглављу *Резултати*, указују на нове путеве у програмима ћелијске пролиферације и диференцијације током формирања фоликула и почетног сазревања јајних ћелија у неонаталним јајницима пацова. Гледано кроз развојне промене, главни промене код младунаца нултог дана старости су: 1) значајно смањење телесне масе хипотироидних младунаца, као и снижена концентрација T_3 у плазми; 2) велики број атипичних оогонија/ооцита са израженом ацидофилношћу (еозинофилијом) цитоплазме у јајницима хипотироидних младунаца; 3) на ултраструктурном нивоу атипичне оогоније/ооците, показују особине дегенерисаних ћелија услед интензивне аутофагије, апоптозе или њиховог удруженог деловања; 4) ооците у профазу мејозе I у јајницима хипотироидних младунаца овог узраста интензивно акумулирају органеле, што указује на њихову убрзану матурацију; 5) већи број TUNEL позитивних оогонија/ооцита присутан је у будућој сржи него у кори јајника у контролној групи младунаца, док је код хипотироидних младунаца уочен мали број ових ћелија; 6) значајно већи број оогонија/ооцита је PCNA-позитивно у јајницима хипотироидних младунаца, док је имуноекспресија каспазе 3, ATG и LC3 слична код контролних и хипотироидних младунаца.

У јајницима младунаца старости 4 и 7 дана запажено је: 1) убрзано формирање примордијалних фоликула у будућој кори јајника, праћено ултраструктурним променама у виду проширеног sER и измењеном морфологијом митохондрија у јајницима хипотироидних младунаца; 2) троструко виши ниво експресије PCNA у ооцитама и гранулоза ћелијама примордијалних фоликула јајника хипотироидних младунаца старости 4 дана, праћен незнатно вишим нивоом апоптотских маркера; 3) благо повећање броја примарних, секундарних и преантралних фоликула, без разлике у експресији апоптотских и маркера пролиферације.

Уочене промене су у поглављу *Дискусија* посматране у светлу неусаглашених, па и потпуно контрадикторних података из литературе (цитирана је чак 451 референца). Подаци долазе подједнако из клиничких студија и експерименталних анималних модела. Највећи број студија о утицају хипотироидизма на анималним моделима спроведене су

употребом гоитрогена, ПТУ или метимазола, с обзиром да се користе у медицини за лечење хипертироидизма. Међутим, у поређењу са хипертироидизмом, инциденца хипотироидизма у трудноћи код људи је далеко већа (2-3% трудница), од чега се у 2-2,5% ради о субклиничком хипотироидизму, а остатак чини клинички хипотироидизам. Последњих година бележи се све чешћа инциденца хипотироидизма *per se* и представља растући проблем по здравље људи. Дискутујући добијене резултате кандидат истиче да је веома важно дефинисати његов утицај на репродуктивни потенцијал и мајки и потомства јер се раном надокнадом тироидних хормона код новорођенчади са конгениталним хипотироидизмом могу спречити последице по репродуктивни потенцијал у даљем развоју.

На основу добијених резултата и дискусије, кандидат је у поглављу *Закључак* јасно истакла да индуковани хипотироидизам мајке доводи до промена у јајницима у смислу поремећаја формирања фоликула, што за последицу може имати поремећај њихове функције код одраслих јединки. Јајници младунаца на рођењу се карактеришу интензивираном елиминацијом оогонија и ооцита кроз формирање Z-ћелија (секундарна некроза), као и подстицањем аутофагије. Претпоставка је да се већина ооцита у јајницима хипотироидних младунаца, које преживљавају, а експримирају PCNA, налази у процесу убрзане матурације цитоплазме. Овакве промене у цитоплазми доводе до прераног формирања примордијалних фоликула, што је потврђено у јајницима хипотироидних пацова старости 4 и 7 дана. Промене на sER и митохондријама у прерано формираним примордијалним фоликулима јајника ових младунаца, које настају као последица хипотироидизма мајки, су без клиничких знакова у току периода ране постнаталне фоликулогенезе, али могу бити потенцијални узрок репродуктивних проблема у периоду полне зрелости. Све то указује на убрзану фоликулогенезу праћену привременом резистенцијом на апоптозу узроковану хипотироидизмом мајки у овом узрасту.

Радови и конгресна саопштења из докторске дисертације:

Б1. Радови у часописима међународног значаја

1. **Danilovic-Lukovic JB**, Korac AB, Milosevic IA, Luzajic T, Puskas NS, **M22** Kovacevic-Filipovic MM, Radovanovic AM (2016) Altered state of primordial follicles in neonatal and early infantile rats due to maternal hypothyroidism: Light and electron microscopy approach, *Micron*, 90:33-42. (IF 1.838, 4/10 Microscopy) <https://www.ncbi.nlm.nih.gov/pubmed/27569271>
2. **Danilovic-Lukovic J**, Korac A, Milosevic I, Luzajic T, Milanovic Z, Kovacevic-Filipovic M, Radovanovic A (2017) Z-cells and oogonia/oocytes in advanced process of autophagy are dominant altered cells in ovaries of hypothyroid newborn rats. *Acta Vet.* DOI:10.1515/acve-2017-0009 (IF 0.741, 82/138 Veterinary Science)

Б3. Конгресна саопштења на скуповима међународног значаја

1. **Danilović Luković J**, Marković D, Todorović V, Drndarević N, Roksandić D, **M34** Radovanović A. Apoptosis of the oocytes of hypothyroid neonatal rat., 5th International Symposium of Clinical and Applied Anatomy and 1st Paneuropean Meeting of Anatomist, 24th-26th May 2013, Gratz, Austria, p36.

Мишљење и предлог Комисије:

Докторска дисертација Јелене Б. Даниловић Луковић под насловом „Утицај смањене функције штитасте жлезде мајки на развој јајника младунаца пацова у раном

постнаталном периоду“ је прва, нама позната, детаљна студија о утицају конгениталног хипотироидизма на пролиферацију/диференцијацију ооцита и фоликулогенезу.

На основу увида у експериментални рад и докторску дисертацију, Комисија закључује да је постављени циљ за израду докторске дисертације у потпуности испуњен, да резултати објављени у оквиру ове докторске дисертације представљају значајан научни допринос и са задовољством предлаже Наставно-научном већу Биолошког факултета Универзитета у Београду да прихвати позитивне оцене докторске дисертације Јелене Б. Даниловић Луковић под насловом „Утицај смањене функције штитасте жлезде мајки на развој јајника младунаца пацова у раном постнаталном периоду“ и кандидату омогући јавну одбрану рада.

КОМИСИЈА:

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

др Анита Радовановић, ванредни професор
Универзитет у Београду-Факултет ветеринарске медицине

др Маја Чакић-Милошевић, доцент
Универзитет у Београду-Биолошки факултет

др Милица Ковачевић Филиповић, редовни професор
Универзитет у Београду-Факултет ветеринарске медицине

У Београду, 04.02.2017. године.