

UNIVERZITET CRNE GORE
PRIRODNO-MATEMATIČKI FAKULTET

Vijeću Prirodno-Matematičkog Fakulteta

PREDMET: Pregled i ocjena magistarskog rada kandidata Grubac Marka, dipl. biologa.

Od strane Vijeća Prirodno-matematičkog fakulteta Univerziteta Crne Gore, imenovana je Komisija za pregled i ocjenu magistarskog rada pod naslovom: „Analiza gena HLA lokusa A, B i DRB1 kod transplantacije bubrega sa živog donora u Crnoj Gori kandidata Marka Grubača, dipl. biologa.

Na osnovu pregledanog rada i uslova utvrđenih Zakonom o visokom školstvu i Statutom Univerziteta Crne Gore, podnosimo sljedeći

IZVJEŠTAJ

A) Prikaz sadržaja magistarskog rada

Magistarski rad kandidata Marka Grubača napisan je na 52 strane i podijeljen je na sledeća poglavlja: uvod, ciljevi rada, materijal i metode, rezultati, diskusija, zaključci i literatura. U radu se nalazi 16 slika i 17 tabela.

U **Uvodu** je dat kratak istorijat otkrića sistema humanih leukocitnih antigena (HLA), zatim je opisana genska organizacija lokusa HLA, građa i uloga antigena HLA klase I i

II, uloga molekula HLA u transplantaciji solidnih organa i tkiva, kao i građa i uloga antitijela HLA. Takođe, opisani su najsavremeniji pojmovi nomenklature HLA, način nasljeđivanja, kao i prikaz porijekla i značaja polimorfizma sistema HLA. Opisan je način odabira najboljeg donora prilikom transplantacije bubrega po smjernicama Eurotransplanta i Evropske Federacije za Imunogenetiku (EFI).

Ciljevirada su precizno definisani. Cilj je bio ustanoviti učestalost grupe alela HLA za lokuse HLA-A, -B i -DRB1 u grupi pacijenata i donora, učestalost očekivanih haplotipova HLA-A-B-DRB1u grupi pacijenata i donora, ustanoviti stepen genetske sličnosti sa susjednim državama, izračunati broj nepodudarnosti (missmatch) između pacijenta i donora za lokuse HLA-A, -B i -DRB1 i izračunati ukupan broj nepodudarnosti pojedinačno za sva tri lokusa HLA.

U poglavlju **Materijal i metode** navedeno je da su testiranja ispitivanih grupa rađena u Centru za tipizaciju tkiva, KBC Zagreb. Opisana je analiza transplantacionih parova po srodstvu, a retrospektivnom analizom je određena učestalost alelskih grupa i haplotipova HLA za lokuse HLA-A, -B i DRB1. Precizno su opisane metode za izolaciju DNK, a zatim molekularne metode za tipizaciju HLA zasnovane na reakciji lančanog umnožavanja DNK (PCR) upotrebom oligonukleotidnih proba specifičnih za sekvencu (PCR-SSO). Prikazane su statističke metode za dobijanje učestalosti grupe alela i haplotipova HLA, način bodovanja nepodudarnosti (missmatch) po Eurotransplantu i metode za poređenje populacije Crne Gore sa drugim populacijama u okviru učestalosti alelskih grupa i haplotipova HLA.

U poglavlju **Rezultati** detaljno su opisani i jasno predstavljeni dobijeni rezultati. Prvo su prikazani rezultati analize učestalosti grupe alela i haplotipova HLA u grupi pacijenata i donora, zatim rezultati analize nepodudarnosti grupe alela HLA kod transplantacionih parova i rezultati ukupnog broja nepodudarnih grupa alela pojedinačno po lokusima HLA-A, -B i DRB1.

Diskusija je napisana jasno i pregledno, uz prikaz poređenja 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.

B) Kratak opis postignutih rezultata

Retrospektivnom analizom određivana je učestalost alelskih grupa i haplotipova za lokuse HLA-A, -B i DRB1. Tri najčešće grupe alela koje imaju učestalost veću od 5% u ispitivanoj grupi pacijenata su: A*02, A*24 i A*03 za lokus HLA-A; B*51, B*35 i B*18

za lokus HLA-B; DRB1*01, DRB1*11 i DRB1*15 za lokus HLA-DRB1. Najčešći haplotipovi tri grupe alela u grupi pacijenata su: HLA-A*02 - B*35 - DRB1*15, HLA-A*02 - B*51 - DRB1*04 i HLA-A*01 - B*08 - DRB1*03.

U grupi donora tri najčešće grupe alela koje imaju učestalost veću od 5% za lokus HLA-A su: A*02, A*03 i A*24; za lokus HLA-B: B*51, B*18 i B*35; za lokus HLA-DRB1: DRB1*15, DRB1*01 i DRB1*11. Najčešći haplotipovi tri grupe alela u grupi donora su: HLA-A*02 - B*51 - DRB1*11, HLA-A*01 - B*08 - DRB1*03 i HLA-A*02 - B*27 - DRB1*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. Upoređivanjem dobijenih rezultata o učestalosti alelskih grupa i haplotipova u populaciji Crne Gore sa podacima o učestalosti alelskih grupa i haplotipova kod populacija susjednih zemalja, nije dokazan stepen genetičke različitosti.

Ispitivanim transplantacionim parovima je po smjernicama Eurotransplanta izračunata nepodudarnost za lokuse HLA-A, B i DRB1, a potom koristeći sistem bodovanja Eurotransplanta transplantacionim parovima su dodijeljeni poeni, i to: šest parova 0 MM (400 poena), pet parova 1 MM (300 poena), jedanaest parova 2 MM (267 poena), šestnaest parova 3 MM (200 poena), šest parova 4 MM (133 poena), šest parova 5 MM (67 poena), jedan par 6 MM (0 poena). Na kraju je prikazan i ukupan broj nepodudarnosti pojedinačno za svaki ispitivani lokus: HLA-A 15 MM, HLA-B 17 MM i HLA-DRB1 17 MM.

C) Uporedna analiza magistarskog rada sa rezultatima iz literature

Retrospektivne analize podataka HLA tipizacija davalaca u registima davalaca matičnih ćelija hematopoeze (MČH) se najčešće koriste kao izvor podataka o polimorfizmu HLA za određenu populaciju, s obzirom na dostupne rezultate velikog broja ispitanika (Andrić, 2014.). U ovom slučaju korišćena je grupa od 50 nesrodnih davalaca bubrega, koja se može smatrati zdravom kontrolnom grupom za dobijanje preliminarnih rezultata uporedbe učestalosti grupe alela i haplotipova HLA naše populacije i susjednih država (Srbija, Hrvatska, Albanija, Bosna i Hercegovina, Sjeverna Makedonija i Slovenija).

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 6 populacija na osnovu dostupne učestalosti grupe alela za lokuse HLA-A, B i DRB1 (Gonzalez-Galarza i sar., 2020).

Procjena važnosti HLA podudarnosti između pacijenata i donora je tema mnogih naučnih radova (Lim WH i sar., 2012; Zachary i sar., 2016; Laging i sar., 2017; Baranwal i sar., 2018; Williams i sar., 2018; Delion i sar., 2019).

D) Zaključak:

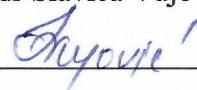
Rezultati magistarskog rada „Analiza gena HLA lokusa A, B i DRB1 kod transplantacije bubrega sa živog donora u Crnoj Gori“ kandidata Marka Grubača, predstavljaju prvi put prikazane učestalosti alela i haplotipova HLA za lokuse A, B i DRB1 u populaciji Crne Gore. Autor rada ističe da veća podudarnost u lokusima HLA utiče na bolji ishod transplantacije i duže funkcionisanje presađenog grafta. Suprotno, manja podudarnost može dovesti do kraćeg funkcionisanja presađenog grafta i bržeg stvaranja de-novo DSA.

Ovaj magistarski rad je urađen prema svim principima naučnog istraživanja. Ciljevi su bili precizno definisani a metodologija korišćena za analizu pacijenata i donora je bila usaglašena sa zvaničnim smjernicama Evropske federacije za imunogenetiku (EFI) i Eurotransplanta. Rezultati su pregledno i sistematično prikazani i diskutovani, a iz njih su izvedeni odgovarajući zaključci koji imaju praktični značaj.

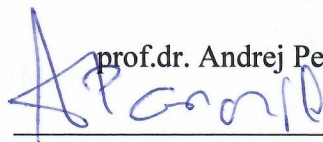
Na osnovu svega navedenog, Komisija predlaže Naučnom vijeću Prirodno-matematičkog fakulteta u Podgorici, da odobri odbranu magistarskog rada „Analiza gena HLA lokusa A, B i DRB1 kod transplantacije bubrega sa živog donora u Crnoj Gori“ kandidata Marka Grubača.

Članovi komisije:

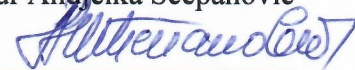
prof. dr Slavica Vujovic, mentor



prof.dr. Andrej Perović



prof. dr Andjelka Šćepanović



U Podgorici, 19.12..2024.