

SVEUČILIŠTE U ZAGREBU

MEDICINSKI FAKULTET

LIST MEDICINSKOG FAKULTETA

www.mef.hr

ISSN 1332-960X

Prosinac 2022 / Godina 41, br. 2

Tema broja:

*Znanost na Medicinskom fakultetu
Sveučilišta u Zagrebu*

Znanstveni centar izvrsnosti za reproduksijsku i regenerativnu medicinu
Medicinskog fakulteta Sveučilišta u Zagrebu

Istraživačka jedinica Biomedicinsko istraživanje reprodukcije i razvoja

Uvod

Znanstveni centar izvrsnosti za reproduksijsku i regenerativnu medicinu Medicinskog fakulteta Sveučilišta u Zagrebu (CERRM) osnovalo je 10. studenoga 2014. godine tadašnje Ministarstvo znanosti, obrazovanja i športa Republike Hrvatske (MZOŠ) i sastoji se od dviju istraživačkih jedinica:

1. Biomedicinsko istraživanje reprodukcije i razvoja i 2. Regenerativna medicina

Biomedicinsko istraživanje reprodukcije i razvoja (BIRRD) uključuje više od 70 znanstvenika raspoređenih u tzv. **projektno elemente** znanstvenoistraživačkog projekta **Reproduktivna i regenerativna medicina – istraživanja novih platformi i potencijala** (EU KK.01.1.1.01.0008). Elementi projekta doprinose: 1. podizanju razine kohezije projektnog tima i infrastrukture na razinu priznatih laboratorija u EU; 2. poticanju integracije u glavne nacionalne i međunarodne mreže; 3. podizanju kompetentnosti i konkurentnosti tima; 4. provođenju visokovrijednih znanstvenih istraživanja i promicanju izvrsnosti u znanosti te podizanju svijesti o reproduktivnom zdravlju. Istraživačka jedinica Biomedicinsko istraživanje reprodukcije i razvoja povezuje bazična istraživanja reprodukcije i razvoja na sisavcima (koja se provode na životinjskim modelima *in vivo* i *in vitro*) te kliničke studije o neplodnosti muškarca, tumorima sjemenika, patološkim trudnoćama, kongenitalnim anomalijama i genetskim poremećajima. Ove aktivnosti omogućuju translaciju temeljnih istraživanja u kliniku i obrnuto. Slijedi prikaz nekih aktivnosti elemenata u sastavu BIRRD.

Element Testis i spermij čovjeka

U okviru ovog elementa istraživan je utjecaj okolišnog utjecaja na kvalitetu sjemena muškarca primjenom širokog spektra metoda od oštećenja genoma, razine biološke i morfološke maturacije te N-glikolizacije. Razvijena je i nova metoda morfološke analize spermija bojenjem akridin oranžom i uporabom konfokalnog fluorescentnog mikroskopa. Rezultati su pokazali da izloženost pesticidima može imati značajan utjecaj na kvalitetu ljudskog sjemena te da se N-glikani mogu iskoristiti kao pouzdani biomarkeri kvalitete sperme. Novom metodom *in vivo* obojenja sjemena po prvi put je omogućena morfološka analiza spermija vezana za razinu RNA kao važnog čimbenika maturacije.

Na animalnom modelu torzijsko-detorzijske ozljede testisa, po prvi puta u svijetu, multimodalnim pristupom (biokemijskim, histološkim, imunohistokemijskim), istražen je možebitan povoljan učinak astaksantina. Astaksantin ($C_{40}H_{52}O_4$) je trenutno najsnažniji poznati antioksidans čije su strukturne značajke, poput veličine, oblika i polariteta, ključne odrednice

sposobnosti da se pravilno uklopi u svoje molekularno okruženje kako bi maksimalno djelovao. U kontekstu antiapoptotičkog učinka poboljšava fosforilaciju Bcl-xL/Bcl-2, regulira aktivaciju citokroma c te kaspaze 3 i 9 kroz regulaciju proteina p38-MAPK te aktivira put preživljavanja PI3K/Akt što zauzvrat dovodi do smanjene apoptoze. Vezano za prethodna istraživanja na navedenu temu, naši rezultati su se pokazali obećavajućim, čime vjerujemo da će upravo snažni antioksidansi jednoga dana biti primjenjivi u svakodnevnoj kliničkoj praksi na korist pacijentima od njihove najranije dobi. Rezultati istraživanja (u obliku izvornih znanstvenih radova, kratkih priopćenja i pisama uredništvu) dosada su objavljeni u desetak eminentnih znanstvenih časopisa indeksiranih u *Current Contents* bazi podataka (*Journal of Clinical Medicine*, *Journal of Pediatric Urology* (x2), *American Journal of Perinatology*, *American Journal of Emergency Medicine*, *Pediatric Surgery International*, *Central European Journal of Urology*, *Andrologia*, *Journal of Pediatric Surgery*, *Archives of Gynecology and Obstetrics*). Također je važno napomenuti da su rezultati prikazani i na niz međunarodnih kongresa od kojih ističemo *Pediatric Urology Fall Congress* (Miami, Florida, SAD) i *Andrology 2020: International Meeting of the International Society of Andrology (ISA)*, *European Academy of Andrology (EAA)* and *German Society for Andrology DGA* (Münster, Njemačka).

Osobito su vrijedne već uspostavljene znanstvene suradnje s drugim centrima izvrsnosti iz područja andrologije (certificiranim od Europske androloške akademije, EAA) i istraživanjima muške spolne žlijezde. Ove suradnje znatno će unaprijediti međunarodnu prepoznatljivost CERRM-a. U tijeku je zajednički projekt s centrom EAA Sveučilišta u Giessenu (Njemačka) vezan za neopstruktivnu azoospermiju i nastanak fibroze te pregrađivanja parenhima sjemenika. Riječ je o vrlo



Slika 1. Istraživačke aktivnosti BIRRD temelje se na mladim istraživačima i njihovim mentorima

vrijednoj i klinički relevantnoj temi istraživanja neopstruktivne azoospermije koju treba nastaviti u produžetku projekta. S centrom EAA Sveučilišta u Cataniji (Italija) i Institutom Pasteur u Parizu (Francuska) ostvarena je suradnja vezana za istraživanje genetske podloge nastanka idiopatske neopstruktivne azoospermije. Prva serija uzoraka upravo se analizira u Institutu Pasteur. U tijeku je i suradnja s University of Georgia na istraživanju oštećenja sjemenika zbog prekomjernog uzimanja nesteroidnih antireumatika, osobito brufena. Sa Sveučilištem u Hamburgu (Njemačka) u tijeku je istraživanje građe Reinkeovog kristala Leydigovih stanica. Napokon, sa EAA centrima Sveučilišta u Firenci (Italija) i Barceloni (Španjolska) u tijeku su prva uzorkovanja krvi i tkiva vezana za maturacijski arest spermatogeneze.

Element Biomarkeri u patološkoj trudnoći

Cilj ovog elementa je kompleksni i cjeloviti pristup u istraživanju zdravstvenih rizika transplacentarne izloženosti ksenobiotičima, posebno onih koji su endokrino aktivni. U tu svrhu analizirano je oštećenje genoma novorođenčadi, poremetnja metilacije gena vezanih za produkciju estrogena i imunostatus te razina citokina. U istraživanju je sudjelovao interdisciplinarni tim te je bilo uključeno nekoliko inozemnih eksperata iz područja neonatologije, epidemiologije i umjetne inteligencije. Posebni je interes bio usmjeren na istraživanje etiologije preranog rođenja s naglaskom na okolišne čimbenike. Istraživanja su uključila i analizu međusobnog djelovanja transplacentalne izloženosti sastojcima iz hrane s mehanizmima intrauterinog razvoja imunostnog, endokrinog i neuorološkog sustava. Rezultati su pokazali značajan utjecaj životnog okoliša majke na pojavu preranog rođenja djeteta kao i značajno povezanu razinu metiliranosti aromataze te poremetnju IL2. U svim rezultatima endokrini mehanizmi ksenobiotika pokazali su ključnu ulogu u narušavanje urednog razvoja djeteta. Predloženo je cijeloživotno praćenje podataka o bolestima i terapijama od rođenja (eng. Life-Long OneHealth Medical Record).

Element Istraživanje epigenetičkih oznaka u animalnoj reprodukciji i razvoju

Cilj ovog elementa bio je istraživanje razvoja embrionalnih dijelova štakora/miša pod utjecajem epigenetskih lijekova i različitih mikrookoliša. Istraživanje je posvećeno epigenetici razvoja sisavaca, i to u kritičnim fazama koje su posebno osjetljive na vanjske utjecaje, poput gastrulacije i organogeneze. Istraživanje provodimo na laboratorijskim glodavcima *in vitro* i *in vivo* jer su te faze humanog razvoja nedostupne sličnom

Slika 3. Suradnici i ugledni savjetnici Jedinice za istraživanje reprodukcije i razvoja, 2019. Slijeva na desno u prvome redu: Nino Sinčić, Ljiljana Šerman, Ana Katušić-Bojanac, Marta Himelreich-Perić, Floriana Bulić-Jakuš. U drugome redu: Valentina Kujundžić, Jure Krasić, Irena Dobrović-Abramović, Gordana Jurić-Lekić, Tihana Marić, Lucija Škara, Dora Raos, Barbara Knowles, Davor Solter, Sanja Dolanski-Babić, Maja Vlahović.



Slika 2. SPU 2021, Pediatric Urology Fall Congress (Miami, Florida, SAD)

eksperimentalnom radu. U posebnom fokusu su nam epigenetički lijekovi i promjene mikrookoliša koji, s jedne strane, mogu uzrokovati kongenitalne malformacije, intrauterini zastoj u rastu, ali također mogu djelovati antitumorski. Na tu temu su naši suradnici dr. med. Robert Buljubašić, dr. med. Milvija Plazibat i dr. med. Marta Himelreich-Perić obranili svoje disertacije. Objavili smo znanstvene radove u uglednim međunarodnim časopisima, sažetke na brojnim međunarodnim kongresima, aktivno sudjelovali na sastancima u HAZU, sastancima Društva za kliničku genetiku Hrvatske, organizirali međunarodni Nikola Škreb Symposium: New platforms in developmental biology – towards the clinical application, Zagreb, MF, 2018., s pozvanim predavanjima 6 vrhunskih svjetskih znanstvenika i 6 hrvatskih znanstvenika s CERRM-a, postersekcijom, i 270 registriranih sudionika. Također, članice naše istraživačke jedinice, Ingeborg Barišić i Floriana Bulić-Jakuš, sudjelovale su u izradi nacrtu nove specijalizacije iz Medicinske genetike, a organizirani su i brojni tečajevi za nove istraživačke platforme nabavljene za rad u našoj jedinici. U okviru gore navedenog elementa postoje sljedeće aktivnosti:

Aktivnost 1. Epigenetičke oznake u razvoju eksplantata i transplantata zametka štakora nastale pod utjecajem epigenetičkih lijekova i promjena u mikrookolišu

Otkrili smo da lijek valproat, kao inhibitor histonske deacetilaze negativno djeluje na gastulirajući zametak koji se razvija u eksperimentalni embrionalni teratoma *in vitro* tijekom dva tjedna. Zapravo je najviše pogođena diferencijacija neuralnog tkiva što upućuje na oprez od primjene valproata već tijekom

gastrulacije! Putem histonske acetilacije valproat uzrokuje smanjenje rasta i apoptozu, a u većoj dozi također potpuno sprečava rast teratoma u izotransplantatu. U suradnji s kolegama sa Zavoda za fiziku i biofiziku Medicinskog fakulteta analizirali smo FTIR spektroskopijom metabolom potrošenog medija za kulturu tijekom 14 dana i otkrili da se iz metaboloma može zaključiti i predvidjeti o kakvom je mediju riječ (valproat, kontrola, slijepa proba) kao i starost kulture. Osim toga, otkrili smo u potrošenom mediju biomarkere histonske acetilacije i apoptoze. Naš 3D sustav sada predstavlja pravi, zaokruženi biološki sustav jer je u njemu moguće analizirati sve njegove komponente. Dakle, ustanovili smo originalni model probira antitumorskih i teratogenih/embriotoksičnih supstancija. U eksperimentalnom teratomu *in vitro* također smo otkrili efekte različitih hipertermijskih režima, od kojih možemo izdvojiti antitumorsko djelovanje termalne doze CEM43°C 585 minuta uz korištenje protutijela na HSP70.

Objavili smo dinamiku globalne metilacije u pupoljcima udova kultiviranim u prirodnom 3D *in vitro* modelu sa serumom i kemijski definiranim bez seruma. Budući da se radi o originalnom istraživanju u kritičnoj fazi organogeneze u štakora, a u slučaju epigenetičkih lijekova i promjene temperature o potpuno novim rezultatima, dali smo doprinos boljem razumijevanju mogućih nuspojava udruženih fizikalnih i medikamentnih terapija.

Aktivnost 2. Epigenetičke oznake u razvoju *in vitro* i u transplantatu zametka miša nastale pod utjecajem epigenetičkih lijekova i siRNA

Inhibitori HDAC, valproat i trihostatin A pokazuju gotovo identičan obrazac smanjenog rasta eksperimentalnog teratoma nastalog od gastrulirajućeg zametka *in vitro*, ali postoje razlike u genskoj ekspresiji i prisutnosti nediferenciranih tumorskih stanica. Čini se da trihostatin A može imati neželjene nuspojave kada bi se primijenio u terapiji. RNA interferencija (siRNA), kao terapijsko sredstvo, u ovom modelu pokazala je važnost gena pluriptencije u razvoju eksperimentalnog teratoma.

Aktivnost 3. Utjecaj epigenetičkog lijeka 5-azacitidina na razvoj štakorskog zametka

Istraživali smo utjecaj DNA hipometilacijskog epigenetičkog lijeka 5-azacitidina na razvoj zametka štakora *in vivo* uz prethodni tretman antioksidansom PBN. Rezultati su pokazali da antioksidans putem smanjenja oksidativnog stresa smanjuje negativni utjecaj lijeka na rast te prisutnost malformacija. Dokazali smo da i placenta slično reagira na prethodni tretman s antioksidansom. Naše istraživanje upućuje na slabo istraženu važnost razine globalne metilacije DNA u procesima embrionalnog i placentalnog razvoja čovjeka te na mogućnost prevencije intrauterinog zastoja u rastu (IUGR) s pomoću antioksidansa.

Dio naše aktivnosti odnosi se na bazično istraživanje kritičnih faza razvoja testisa, što je važno za razumijevanje uzroka neplodnosti. Otkrili smo da DNA hipometilacija 5-azacitidinom inducira apoptozu u testisu ovisno o vremenu primjene. Također, pronađeno je da se apoptotične stanice pojavljuju nekoliko dana nakon aplikacije 5azaC. Stoga je postavljena hipoteza o mogućem utjecaju 5-azacitidina na proces *de novo* metilacije u prospermatogonijama, koji se odvija pred kraj gestacije. Globalna metilacija DNA analizirana je u testisima metodom pirosekvenciranja, te je nađeno da 5-azacitidin inducira smanjenje globalne metilacije u testisima, s posljedičnim pojavljivanjem

vanjem apoptotičnih stanica. Provedena je i usporedna analiza u glodavaca i čovjeka dosad nedovoljno istraženih DNA-metilacijskih epigenetičkih oznaka i regulacije aktivnosti Rb1 i H19 gena tijekom razvoja fetalnih testisa *in vivo*. U posljednje vrijeme uspostavljamo model kulture *in vitro* testikularnog tkiva u kojemu istražujemo ekspresiju gena i metilacijske oznake (prijavljena disertacija Dajane Krsnik).

Barkerova hipoteza FOAD koja govori o fetalnom podrijetlu bolesti u odrasloj dobi, počesto se odnosi na poremećaje reprodukcije upravo zbog činjenice da je razvoj reproduktivnih organa uglavnom završen prije rođenja. U muškom se reproduktivnom sustavu tijekom razvoja testisa odvijaju epigenetski događaji kao što je reprogramiranje zametnih stanica metilacijom DNA, što je osnova fenomena genomskog utiskivanja, koji osigurava monoalelnu ekspresiju gena ovisnu o roditelju porijekla i naknadno normalan reproduktivni potencijal. Pogreške u metilaciji DNA spermija već su povezane s neplodnošću, rizikom od raka testisa, a u novije vrijeme i s razvojnim defektima potomstva. U žarištu naših istraživanja je definiranje epigenetski osjetljivih razdoblja tijekom razvoja testisa kao uzroka neplodnosti (uključujući histološki ili fenotip sjemena). To podrazumijeva istraživanje unutaranih i vanjskih čimbenika koji utječu na epigenetske događaje tijekom razvoja testisa i spermatogeneze što se postiže *in vivo* istraživanjem na životinjskim modelima kao i *in vitro* modelima kulture organa. Također, posjedujemo vrijednu zbirku parafinskih uzoraka fetalnih ljudskih testisa i DNA uzoraka muškaraca s različitim oblicima neplodnosti. Laboratorij za epigenetiku i molekularnu medicinu nalazi se u Zavodu za medicinsku biologiju Medicinskog fakulteta Sveučilišta u Zagrebu. Posebnost toga laboratorija je oprema za molekularne analize malih uzoraka s malim udjelom bioloških molekula u tkivima i tekućim biopsijama.

Element Epigenetika tumora zametnih stanica testisa

Tumori testisa rijetka su bolest opće muške populacije, ali najčešća neoplazija u muškaraca između 15. i 45. godine života s porastom incidencije i u Hrvatskoj i u svijetu. Velik izazov u procesu dijagnosticiranja pacijenata s tumorom testisa jest nepostojanje visokospecifičnih i visokoosjetljivih biomarkera kojima bi se postavila dijagnoza i usmjerilo daljnje liječenje. Nadalje, nije u potpunosti razjašnjena biologija razvoja tumora testisa. U tim



Slika 4. Laboratorij za epigenetiku i molekularnu medicinu Zavoda za medicinsku biologiju

istraživanjima veliku ulogu imaju animalni modeli. Cilj ovog istraživanja bio je definirati animalni model teratokarcinoma miša na molekularnoj razini te definirati njegovu korisnost u sličnim istraživanjima. Slijedi opis pojedinih aktivnosti ovog elementa:

Aktivnost 1. Identifikacija epigenetičkih biljega s translacijskim potencijalom iz krvi i ejakulata bolesnika s ne seminomatoznim tumorima zametnih stanica testisa

U cilju identifikacije i validacije translacijskog potencijala epigenetičkih biljega tumora zametnih stanica testisa, provodimo istraživanje na solidnim i tekućinskim biopsijama pacijenata. Suvremenom tehnologijom pirosekvenciranja fragmenata nestanične DNA iz krvi i ejakulata pacijenata i zdravih dobrovoljaca, identificirali smo potencijalne epigenetičke biomarkere na razini metilacije nestanične DNA u tekućinskim biopsijama koji bi mogli imati translacijski potencijal za kliničku primjenu u dijagnostici i praćenju pacijenata s tumorom testisa. Tijekom istraživanja unaprijeđeni su mnogi tehnološki i metodološki procesi važni za razvoj područja epigenetičkih biomarkera u tekućinskim biopsijama.

Aktivnost 2. Determinacija ekvivalentnosti animalnih modela i opravdanost njihove primjene u istraživanju tumora zametnih stanica na molekularnoj razini

Sveobuhvatnim dizajnom molekularnog profiliranja analizirane su i identificirane sličnosti i razlike na molekularnoj razini između teratokarcinoma u čovjeka i eksperimentalnog animalnog modela teratokarcinoma u miša. Dobiveni rezultati potvrđuju vrijednost ovog animalnog modela u istraživanju biologije tumora testisa, ali postavlja i jasna ograničenja u kontekstualizaciji rezultata na molekularnoj razini i prijenosu znanja na biologiju tumora testisa u čovjeka.

Tijekom trajanja projekta svoje su disertacije obranili naši suradnici dr. sc. Jure Krasić, dr. sc. Dora Raos, dr. sc. Irena Abramović, dr. sc. Lucija Škara i dr. sc. Miroslav Tomić. Rezultate istraživanja te metodološka unaprijeđenja područja, objavili smo u nizu prestižnih časopisa visokog indeksa odjeka. Rezultate smo predstavili u okviru pozvanih predavanja i poster-prezentacija na nizu međunarodnih znanstvenih skupova u Europi i svijetu. Tijekom istraživanja veliki smo naglasak stavili na edukaciju mladih suradnika koji su razvijali svoje kompetencije i vještine pohađajući mnoge tečajeve i radionice na temu razvoja epigenetičkih biomarkera u Europi.

Element Posteljica u patološkoj trudnoći – analiza metilacije DNA gena i ekspresije proteina signalnog puta Wnt i Hedgehog u invazivnim procesima kod patoloških trudnoća i tumora jajnika

Ovaj element obuhvaća dva naizgled nespojiva, no genetski i epigenetski slična tkiva – ono trofoblasta i tumora. Naime, da bi posteljica mogla adekvatno odigrati svoju funkciju zadovoljavanja potreba rastućeg zametka i ploda, stanice trofoblasta koje su glavni akter fetalnog dijela posteljice, moraju pravilno invadirati u sluznicu maternice te remodelirati spiralne arterije majke. Proces koji se pri tome zbivaju nalik su proce-



Slika 5. Pavao Mioč, dr. med., sada specijalizant kardiologije u KBC Sestre milosrdnice, tijekom svojih studentskih dana u Ateni na International Gynecologic Cancer Society & European Society of Gynaecological Oncology 2019. godine, kad je predstavio rezultate svoga istraživanja u sklopu našega ZCI-a Smoothened protein expression and promoter methylation status in serous ovarian carcinomas

sima u tumorigenezi. Stoga nije čudno da placentacija i tumorigeneza dijele neke zajedničke fiziološke osobine koje se mogu pratiti na genetskoj i epigenetskoj razini.

Zanimljivo je da su i u povijesti istraživanja ove teme prevladavali radovi koji su govorili o sličnosti tih tkiva, a time i mogućnosti korištenja proučavanja ponašanja trofoblasta u razumijevanju nastanka i invazivnosti tumora. No unatrag nekoliko godina sve je više radova u kojima se prvotno otkriveni tumorski biljezi povezuju s funkcioniranjem trofoblasta i gestacijskim bolestima, što upućuje na drugi rakurs gledanja. To znači da je, iako je naše istraživanje prvotno bilo osmišljeno kao prozor u karcinogenezu kroz proučavanje invazivnih procesa tijekom zdrave i patološke placentacije, s vremenom došlo do inverzije ovog pristupa, kako u svjetskoj znanosti tako i u našim istraživanjima i pristupima.

U rad elementa, osim članova Zavoda za biologiju (Ljiljana Šerman, Valentina Karin-Kujundžić, Tamara Nikuševa-Martić) i kolega Zavoda za fiziku (Sanja Dolanski Babić, Kristina Serec, Nikola Šegedin) uključeni su kliničari KB Sveti Duh (Berivoj Mišković, Ivanka Bekavac-Vlatković, Alan Šerman), KBC Sestre Milosrdnice (Krunoslav Kuna, Ida Marija Šola), KB Merkur (Anita Škrtić, Vedran Kardum, Daria Mužinić, Petra Kejla) i KBC Rebro (Tamara Žigman).

Od početka na ovoj temi surađujemo s College of Medicine, Qatar University, Doha, Katar, s kojima smo sudjelovali na me-



Slika 6. Dr. sc. Valentina Karin-Kujundžić i dr. sc. Adriana Covrribias-Pinto u laboratoriju prof. dr. sc. Ivana Đikića na Medicinskom fakultetu Sveučilišta Goethe u Frankfurtu

đunarodnom projektu The expression of the Hedgehog signalling pathway components Gli1, Gli3 and PTCH1 in invasive apocrine carcinoma of the breast, voditelja prof. dr. sc. Semira Vranića, također člana našeg elementa.

Budući da je cilj Medicinskog fakulteta u Zagrebu, pa tako i našega elementa unutar BIRRD-a, uključivanje studenata medicine u znanstveni rad, zadovoljni smo što su na ovoj istraživačkoj temi s nama surađivali mnogi tada studenti, a sada mladi doktori medicine: Pavao Mioč, Ema Somen, Paula Slatina, Mislav Glibo, Tihana Duić, Ana Marija Škoda, Anamarija Potkonjak, Matea Slavica, Ivana Rac, Dora Šimović, Nina Predavec, Katherina Alexandra Schmidt, Dora Šercar. Svi su oni i suautori objavljenih znanstvenih publikacija.

Iako je izvorno na ovoj temi bila planirana izrada četiriju doktorskih radova, trenutačno se privodi kraju i peta disertacija kandidatkinje Ide Marije Šole, dr. med. – Uloga proteina SUFU u povezivanju Wnt i Hedgehog signalnog puta u posteljica s intrauterinim zastojem u rastu (mentori: prof. dr. sc. Ljiljana Šerman, prof. dr. sc. Krunoslav Kuna), a u tijeku su izrade i novih. Četiri dosad obranjena doktorska rada unutar našega

elementa su redom: dr. sc. Tamara Žigman – Značaj uvođenja genetskog testiranja na nasljedni karcinom dojke i jajnika u hrvatski zdravstveni sustav (mentori: prof. dr. sc. Ljiljana Šerman, prof. dr. sc. Danko Vrdoljak); dr. sc. Shkelzen Elezaj – Polymorphism of follicle-stimulating hormone gene receptor in Albanian male population (mentori: prof. dr. sc. Tamara Nikuševa Martić, prof. dr. sc. Feodora Stipoljev); dr. sc. Vedran Kardum – Ekspresija proteina SFRP1, SFRP3, DVL1, DVL2 i DVL3 signalnog puta Wnt u tkivu seroznoga karcinoma jajnika (mentor: prof. dr. sc. Ljiljana Šerman); i dr. sc. Valentina Karin-Kujundžić – Epigenetske promjene i ekspresija proteina PTCH1, SHh i IHh u seroznim karcinomima jajnika (mentor: prof. dr. sc. Ljiljana Šerman). U tijeku je izrada i šeste disertacije Petre Kejle, dr. med. – Spektroskopska istraživanja DNA izolirane iz humanih posteljica s intrauterinim zastojem rasta (mentori: prof. dr. sc. Sanja Dolanski Babić i prof. dr. sc. Ljiljana Šerman) te sedme disertacije Darije Mužinić, dr. med., pod mentorstvom prof. dr. sc. Anite Škrčić.

Dio rezultata proizašao je iz boravka dr. sc. Valentine Karin-Kujundžić u laboratoriju BMLS (Institute of Biochemistry II, School of Medicine), Goethe University Frankfurt, gdje smo s kolegicom dr. sc. Adrianom Covarrubias-Pinto (laboratorij prof. dr. sc. Ivana Đikića) nedavno objavili rad New insight into the role of PTCH1 protein in serous ovarian carcinomas u *International Journal of Oncology*.

Ključno za uspjeh svih aktivnosti na ovom istraživanju jest uvrštavanje u projektni tim skupine kolega sa Zavoda za fiziku našega Fakulteta, koji analiziraju promjene vibracijskih svojstava molekule DNA pod utjecajem različitih soli i pufera, što je znatno poboljšalo znanstvenu vidljivost našega elementa. Cilj naše suradnje bio je odrediti promjene u strukturi tkiva IUGR posteljica kao i sekundarne strukture izoliranih molekula DNA u odnosu na tkiva posteljica zdravih trudnoća i izolirane DNA primjenom infracrvene spektroskopije s Fourierovom transformacijom (FTIR). Za ostvarenje toga cilja bilo je nužno standardizirati metodu pripreme tankih filmova uzoraka tkiva i DNA. U međuvremenu, preliminarni su rezultati upozorili na potrebu sustavnijeg istraživanja utjecaja hidratacije tankih filmova uzoraka DNA na konformacijske promjene DNA. Naime, upravo takve promjene u spektrima autori pripisuju različitim patološkim stanjima te je analiza utjecaja hidratacije na DNA bila nužna za daljnji razvoj metodologije analize DNA izolirane iz humane placente. Tako-



Slika 7. Gostujući znanstvenici ključna su poluga u međunarodnoj suradnji BIRRD-a. Slijeva na desno: Florijana Bulić Jakuš, Davor Ježek, Aleksandra Fučić, Mike Rogers, John Vena, Monika Ulamec i Ana Katusić Bojanac

der, kako je za analizu bioloških uzoraka FTIR-om potrebno obaviti veliki broj mjerenja na velikom broju uzoraka, sustavno se razvijaju automatizirani protokoli za analizu dobivenih spektara putem strojnog učenja. Nastavljena su i fundamentalna istraživanja utjecaja ionske atmosfere na strukturu i formu DNA, posebno iona magnezija, a rezultati su prikazani na renomiranim biofizičkim konferencijama. Rezultati na osnovi kojih smo uspjeli standardizirati pripremu tankih filmova i mjerenja FTIR-om, imaju znanstvenu vrijednost i za BIRRD i za ostale znanstvenike te su publicirani u prestižnim znanstvenim časopisima.

Publikacije u posljednjih 5 godina

- Krnjak G, Vulin K, Pazanin L, Barisic I, Duranovic V. A case of macrophagic myofasciitis in a girl with developmental delay. *Pediatr Int.* 2022;64(1):e14930. doi:10.1111/ped.14930
- Sobočan N, Katušić Bojanac A, Sinčić N, et al. A Free Radical Scavenger Ameliorates Teratogenic Activity of a DNA Hypomethylating Hematological Therapeutic. *Stem Cells Dev.* 2019;28(11):717-733. doi:10.1089/scd.2018.0194
- Talukdar FR, Abramovic I, Cuenin C, et al. A protocol for good quality genomic DNA isolation from formalin-fixed paraffin-embedded tissues without using commercial kits. *Mol Biol Rep.* 2022;49(5):4115-4121. doi:10.1007/s11033-022-07394-1
- Sremac M, Paic F, Grubelic Ravic K, et al. Aberrant expression of SFRP1, SFRP3, DVL2 and DVL3 Wnt signaling pathway components in diffuse gastric carcinoma. *Oncol Lett.* 2021;22(6):822. doi:10.3892/ol.2021.13083
- Peng W, Kepsch A, Kracht TO, et al. Activin A and CCR2 regulate macrophage function in testicular fibrosis caused by experimental autoimmune orchitis. *Cell Mol Life Sci.* 2022;79(12):602. doi:10.1007/s00018-022-04632-4
- Cannarella R, Bertelli M, Condorelli RA, et al. Analysis of 29 Targeted Genes for Non-Obstructive Azoospermia: The Relationship between Genetic Testing and Testicular Histology. *World J Mens Health.* Published online July 14, 2022. doi:10.5534/wjmh.220009
- Oroz M, Begovac J, Planinić A, et al. Analysis of HIV-1 diversity, primary drug resistance and transmission networks in Croatia. *Sci Rep.* 2019;9(1):17307. doi:10.1038/s41598-019-53520-8
- Tomasovic-Loncaric C, Fucic A, Andabak A, et al. Androgen Receptor as a Biomarker of Oral Squamous Cell Carcinoma Progression Risk. *Anticancer Res.* 2019;39(8):4285-4289. doi:10.21873/anticancer.13593
- Baskovic M, Krsnik D, Himelreich Peric M, et al. Astaxanthin Relieves Testicular Ischemia-Reperfusion Injury-Immunohistochemical and Biochemical Analyses. *J Clin Med.* 2022;11(5):1284. doi:10.3390/jcm11051284
- Barisic I, Boban L, Akhmedzhanova D, et al. Beckwith Wiedemann syndrome: A population-based study on prevalence, prenatal diagnosis, associated anomalies and survival in Europe. *Eur J Med Genet.* 2018;61(9):499-507. doi:10.1016/j.ejmg.2018.05.014
- Bergman JEH, Lutke LR, Gans ROB, et al. Beta-Blocker Use in Pregnancy and Risk of Specific Congenital Anomalies: A European Case-Malformed Control Study. *Drug Saf.* 2018;41(4):415-427. doi:10.1007/s40264-017-0627-x
- Fréry N, Santonen T, Porras SP, et al. Biomonitoring of occupational exposure to phthalates: A systematic review. *Int J Hyg Environ Health.* 2020;229:113548. doi:10.1016/j.ijheh.2020.113548
- Minina VI, Sinititsky MY, Druzhinin VG, et al. Chromosome aberrations in peripheral blood lymphocytes of lung cancer patients exposed to radon and air pollution. *Eur J Cancer Prev.* 2018;27(1):6-12. doi:10.1097/CEJ.0000000000000270
- Ulacec M, Bacalja J, Mašić S, et al. Cleaving and the expression of E-cadherin and LMO2 in prostatic adenocarcinoma. *Virchows Archiv.* Published online 2018:193.
- Raos D, Abramović I, Tomić M, et al. CNV Hotspots in Testicular Seminoma Tissue and Seminal Plasma. *Cancers (Basel).* 2021;14(1):189. doi:10.3390/cancers14010189
- Krasić J, Vujnović N, Buljubašić M, et al. Comparative analysis of apoptotic activity in teratocarcinoma and the experimental mouse teratocarcinoma model. *Rad Hrvatske Akademije Znanosti i Umjetnosti Medicinske Znanosti.* Published online 2018:186.
- Ecker A, Mariz S, Naumann-Winter F, et al. Comparative analysis of the scope of European Union paediatric investigation plans with corresponding orphan designations. *Arch Dis Child.* 2018;103(5):427-30. doi:10.1136/archdischild-2017-313352
- Batelja-Vuletic L, Tomasovic-Loncaric C, Ceppi M, et al. Comparison of Androgen Receptor, VEGF, HIF-1, Ki67 and MMP9 Expression between Non-Metastatic and Metastatic Stages in Stromal and Tumor Cells of Oral Squamous Cell Carcinoma. *Life (Basel).* 2021;11(4):336. doi:10.3390/life11040336
- Krasić J, Fucic A, Sincic N, et al. Comparison of Estradiol, Testosterone, and CYP19 Methylation Levels between Full-Term and Preterm Newborns. *Horm Res Paediatr.* 2021;94(5-6):168-175. doi:10.1159/000518112
- Marčić T, Friščić M, Marijanović Z, Maleš Ž, Jerković I. Comparison of Volatile Organic Compounds of *Sideritis romana* L. and *Sideritis montana* L. from Croatia. *Molecules.* 2021;26(19):5968. doi:10.3390/molecules26195968
- Serec K, Segedin N, Krajacic M, Dolanski Babic S. Conformational Transitions of Double-Stranded DNA in Thin Films. *Appl Sci-Basel.* 2021;11(5):2360. doi:10.3390/app11052360
- Goldsmith S, McIntyre S, Scott H, et al. Congenital anomalies in children with postneonally acquired cerebral palsy: an international data linkage study. *Dev Med Child Neurol.* 2021;63(4):421-428. doi:10.1111/dmcn.14805
- Wang H, Barisic I, Loane M, et al. Congenital clubfoot in Europe: A population-based study. *Am J Med Genet A.* 2019;179(4):595-601. doi:10.1002/ajmg.a.61067
- Shah R, Agarwal A, Kavoussi P, et al. Consensus and Diversity in the Management of Varicocele for Male Infertility: Results of a Global Practice Survey and Comparison with Guidelines and Recommendations. *World J Mens Health.* Published online June 13, 2022. doi:10.5534/wjmh.220048
- Weiser D, Mietens A, Stadler B, Ježek D, Schuler G, Middendorff R. Contractions transport exfoliated epithelial cells through the neonatal epididymis. *Reproduction.* 2020;160(1):109-116. doi:10.1530/REP-19-0617
- Mašić S, Bacalja J, Vučić M, et al. Correlation of expression of TGF-beta, MMP-2 and LMO2 between prostatic adenocarcinoma and adjacent unaffected parenchyma. *Virchows Archiv.* Published online 2018:184.
- Borovecki A, Caenazzo L, Jezek D, Karija-Vlahovic M, Golubic B. Croatian National Centre for Biobanking - a new perspective in biobanks governance? *Croat Med J.* 2014;55(4):416-422. doi:10.3325/cmj.2014.55.416
- Žigman T, Lukša I, Mihaljević G, et al. Defining health-related quality of life in localized and advanced stages of breast cancer – the first step towards hereditary cancer genetic counseling. *Acta Clin Croat.* 2020;59(2):209-215. doi:10.20471/acc.2020.59.02.02
- O'Connor DJ, Sheehan ME, Hofer MP, et al. Defining orphan conditions in the context of the European orphan regulation: challenges and evolution. *Nat Rev Drug Discov.* 2019;18(7):479-480. doi:10.1038/nrd.2018.128
- Overland MR, Li Y, Derpinghaus A, et al. Development of the human ovary: Fetal through pubertal ovarian morphology, folliculogenesis and expression of cellular differentiation markers. *Differentiation.* Published online October 19, 2022. doi:10.1016/j.diff.2022.10.005
- Sola IM, Serman A, Karin-Kujundzic V, et al. Dishevelled family proteins (DVL1-3) expression in intrauterine growth restriction (IUGR) placentas. *Bosn J Basic Med Sci.* 2021;21(4):447-453. doi:10.17305/bjbm.2020.5422
- Karin-Kujundzic V, Kardum V, Sola IM, et al. Dishevelled family proteins in serous ovarian carcinomas: a clinicopathologic and molecular study. *APMIS.* 2020;128(3):201-10. doi:10.1111/apm.13012
- Karadža M, Židovec Lepej S, Planinić A, et al. Distribution of human papillomavirus genotypes in women with high-grade cervical intraepithelial lesions and cervical carcinoma and analysis of human papillomavirus-16 genomic variants. *Croat Med J.* 2021;62(1):68-79. doi:10.3325/cmj.2021.62.68
- Karin V, Skrtić A, Skenderić F, Ibišević N, Vranic S, Serman L. DNA promoter methylation status and protein expression of SHH and IHH in serous ovarian carcinomas. *Ann Oncol.* 2018;29. Accessed December 1, 2022. <https://www.webofscience.com/wos/woscc/full-record/WOS:000427179500040>
- A KB, T M, M HP, et al. DNA-demethylating drug acts as "time-bomb" in damaging mammalian embryonic germ cells. *Andrology.* 2018;6(2):40-40.
- Himelreich Perić M, Takahashi M, Ježek D, Cunha GR. Early development of the human embryonic testis. *Differentiation.* Published online July 16, 2022:S0301-4681(22)00052-4. doi:10.1016/j.diff.2022.07.001
- Cannarella R, Condorelli RA, Jezek D, Calogero AE. Editorial: Male Idiopathic Infertility: Novel Possible Targets, Volume 1. *Front Endocrinol (Lausanne).* 2021;12:797228. doi:10.3389/fendo.2021.797228
- Plazibat M, Katušić Bojanac A, Himelreich Perić M, et al. Embryo-derived teratoma in vitro biological system reveals antitumor and embryotoxic activity of valproate. *FEBS J.* 2020;287(21):4783-4800. doi:10.1111/febs.15248
- Vrhovac Madunić I, Karin-Kujundžić V, Madunić J, Sola IM, Serman L. Endometrial Glucose Transporters in Health and Disease. *Front Cell Dev Biol.* 2021;9:703671. doi:10.3389/fcell.2021.703671
- Vučičević Boras V, Fučić A, Baranović S, et al. Environmental and behavioural head and neck cancer risk factors. *Cent Eur J Public Health.* 2019;27(2):106-109. doi:10.21101/cejph.a5565
- Marčić T, Fučić A, Aghayanian A. Environmental and occupational exposures associated with male infertility. *Arh Hig Rada Toksikol.* 2021;72(3):101-113. doi:10.2478/aiht-2021-72-3510
- Coi A, Santoro M, Garne E, et al. Epidemiology of achondroplasia: A population-based study in Europe. *Am J Med Genet A.* 2019;179(9):1791-1798. doi:10.1002/ajmg.a.61289

43. Coi A, Barisic I, Garne E, et al. Epidemiology of aplasia cutis congenita: A population-based study in Europe. *J Eur Acad Dermatol Venereol*. Published online October 27, 2022. doi:10.1111/jdv.18690
44. Morris JK, Wellesley DG, Barisic I, et al. Epidemiology of congenital cerebral anomalies in Europe: a multicentre, population-based EUROCAT study. *Arch Dis Child*. 2019;104(12):1181-1187. doi:10.1136/archdischild-2018-316733
45. Santoro M, Coi A, Barišić I, et al. Epidemiology of Dandy-Walker Malformation in Europe: A EUROCAT Population-Based Registry Study. *Neuroepidemiology*. 2019;53(3-4):169-179. doi:10.1159/000501238
46. Santoro M, Coi A, Barišić I, et al. Epidemiology of Pierre-Robin sequence in Europe: A population-based EUROCAT study. *Paediatr Perinat Epidemiol*. 2021;35(5):530-9. doi:10.1111/ppe.12776
47. Garne E, Rissmann A, Addor MC, et al. Epidemiology of septo-optic dysplasia with focus on prevalence and maternal age - A EUROCAT study. *Eur J Med Genet*. 2018;61(9):483-8. doi:10.1016/j.ejmg.2018.05.010
48. Radujković V, Perić MH, Takahashi M, et al. Epigenetic drug 5-azacytidine impairs the potential for odontogenesis but improves tooth morphogenesis in the transplanted embryonic mandible: Influence of a DNA demethylating agent on transplanted embryonic mandible. *Periodicum Biologorum*. 2020;(1-2):71-80.
49. Raos D, Ulamec M, Katusic Bojanac A, Bulic-Jakus F, Jezek D, Sincic N. Epigenetically inactivated RASSF1A as a tumor biomarker. *Bosn J Basic Med Sci*. 2021;21(4):386-397. doi:10.17305/bjbm.2020.5219
50. Buljubašić R, Buljubašić M, Bojanac AK, et al. Epigenetics and testicular germ cell tumors. *Gene*. 2018;661:22-33. doi:10.1016/j.gene.2018.03.072
51. Boyle B, Addor MC, Arriola L, et al. Estimating Global Burden of Disease due to congenital anomaly: an analysis of European data. *Arch Dis Child Fetal Neonatal Ed*. 2018;103(1):F22-F28. doi:10.1136/archdischild-2016-311845
52. Morris JK, Garne E, Loane M, et al. EUROlinkCAT protocol for a European population-based data linkage study investigating the survival, morbidity and education of children with congenital anomalies. *BMJ Open*. 2021;11(6):e047859. doi:10.1136/bmjopen-2020-047859
53. Pohovski LM, Bobinec A, Measic A, et al. Evaluation of recurrent copy number variations in patients with neurodevelopmental disorders. *Eur J Hum Genet*. 2020;28(SUPPL 1):384-384.
54. Sobočan N, Himelreich-Perić M, Katusić-Bojanac A, et al. Extended Prophylactic Effect of N-tert-Butyl- α -phenylnitron against Oxidative/Nitrosative Damage Caused by the DNA-Hypomethylating Drug 5-Azacytidine in the Rat Placenta. *Int J Mol Sci*. 2022;23(2):603. doi:10.3390/ijms23020603
55. Bašković M, Župančić B, Žganjer M, Nikolić I, Ježek D, Čizmić L. From Ataxia to Diagnosis of Askin Tumor - a Case Report. *Acta Medica (Hradec Kralove)*. 2018;61(2):60-64. doi:10.14712/18059694.2018.53
56. Druzhinin VG, Matskova LV, Demenkov PS, et al. Genetic damage in lymphocytes of lung cancer patients is correlated to the composition of the respiratory tract microbiome. *Mutagenesis*. 2021;36(2):143-153. doi:10.1093/mutage/geab004
57. Serman N, Vranic S, Glibo M, Serman L, Bukvic Mokos Z. Genetic risk factors in melanoma etiopathogenesis and the role of genetic counseling: A concise review. *Bosn J Basic Med Sci*. 2022;22(5):673-682. doi:10.17305/bjbm.2021.7378
58. Aghajanyan A, Fucic A, Tskhovrebova L, Gigani O, Konjevoda P. Genome damage in children with classical Ehlers-Danlos syndrome - An in vivo and in vitro study. *Eur J Med Genet*. 2019;62(11):103546. doi:10.1016/j.ejmg.2018.09.013
59. Dolk H, Leke AZ, Whitfield P, et al. Global birth defects app: An innovative tool for describing and coding congenital anomalies at birth in low resource settings. *Birth Defects Res*. 2021;113(14):1057-1073. doi:10.1002/bdr2.1898
60. Mužić Radović V, Bunoza P, Marić T, et al. Global DNA methylation and chondrogenesis of rat limb buds in a three-dimensional organ culture system. *Bosn J Basic Med Sci*. 2022;22(4):560-568. doi:10.17305/bjbm.2021.6584
61. Caltabiano R, Condorelli D, Panza S, et al. Glucagon-like peptide-1 receptor is expressed in human and rodent testis. *Andrology*. 2020;8(6):1935-1945. doi:10.1111/andr.12871
62. Bučar M, Šegota V, Rimac A, Koletić N, Marić T, Alegro A. Green Christmas: bryophytes as ornaments in Croatian traditional nativity scenes. *J Ethnobiol Ethnomed*. 2022;18(1):15. doi:10.1186/s13002-022-00516-w
63. Tavares A, Aimonen K, Ndaw S, et al. BHM4EU Chromates Study-Genotoxicity and Oxidative Stress Biomarkers in Workers Exposed to Hexavalent Chromium. *Toxics*. 2022;10(8):483. doi:10.3390/toxics10080483
64. Karin V, Slavica M, Skrtic A, Vranic S, Serman L. Hedgehog Signaling Pathway Status in Serous Ovarian Carcinomas. *Lab Invest*. 2018;98:428-429.
65. Urhoj SK, Tan J, Morris JK, et al. Hospital length of stay among children with and without congenital anomalies across 11 European regions-A population-based data linkage study. *PLoS One*. 2022;17(7):e0269874. doi:10.1371/journal.pone.0269874
66. Kafka A, Karin-Kujundžić V, Šerman L, et al. Hypermethylation of Secreted Frizzled Related Protein 1 gene promoter in different astrocytoma grades. *Croat Med J*. 2018;59(5):213-223. doi:10.3325/cmj.2018.59.213
67. Dumic K, Barisic I, Potocki K, Sansovic I. Hypochondroplasia due to FGFR3 gene mutation (N540K) and mosaic form of Down syndrome in the same patient. *J Appl Genet*. 2011;52(2):209-212. doi:10.1007/s13353-010-0024-y
68. Fucic A, Mantovani A, Ten Tusscher GW. Immuno-Hormonal, Genetic and Metabolic Profiling of Newborns as a Basis for the Life-Long OneHealth Medical Record: A Scoping Review. *Medicina (Kaunas)*. 2021;57(4):382. doi:10.3390/medicina57040382
69. Krasic J, Abramovic I, Vrtaric A, et al. Impact of Preanalytical and Analytical Methods on Cell-Free DNA Diagnostics. *Front Cell Dev Biol*. 2021;9:686149. doi:10.3389/fcell.2021.686149
70. Sansović I, Barišić I, Dumić K. Improved detection of deletions and duplications in the DMD gene using the multiplex ligation-dependent probe amplification (MLPA) method. *Biochem Genet*. 2013;51(3-4):189-201. doi:10.1007/s10528-012-9554-9
71. Raos D, Krasic J, Masic S, et al. In Search of TGCT Biomarkers: A Comprehensive In Silico and Histopathological Analysis. *Dis Markers*. 2020;2020:8841880. doi:10.1155/2020/8841880
72. Fucic A, Maric T, Vivic Bockor V, Jezek D. In vivo acridine orange human spermatozoa staining-A new perspective for RNA detection and spermatozoa morphology evaluation. *Anat Histol Embryol*. 2021;50(1):102-107. doi:10.1111/ah.12606
73. Druzhinin VG, Matskova LV, Fucic A. Induction and modulation of genotoxicity by the bacteriome in mammals. *Mutat Res Rev Mutat Res*. 2018;776:70-7. doi:10.1016/j.mrev.2018.04.002
74. Benković M, Bosiljkov T, Semic A, Ježek D, Srećec S. Influence of Carob Flour and Carob Bean Gum on Rheological Properties of Cocoa and Carob Pastry Fillings. *Foods*. 2019;8(2):66. doi:10.3390/foods8020066
75. Gelo N, Kirinec G, Baldani DP, et al. Influence of human embryo cultivation in a classic CO2 incubator with 20% oxygen versus benchtop incubator with 5% oxygen on live births: the randomized prospective trial. *Zygote*. 2019;27(3):131-136. doi:10.1017/S0967199418000618
76. Katusic Bojanac A, Rogosic S, Sincic N, et al. Influence of hyperthermal regimes on experimental teratoma development in vitro. *Int J Exp Pathol*. 2018;99(3):131-44. doi:10.1111/iep.12273
77. Marcus E, Latos-Bielenska A, Jamry-Dziurla A, et al. Information needs of parents of children with congenital anomalies across Europe: a EUROlinkCAT survey. *BMC Pediatr*. 2022;22(1):657. doi:10.1186/s12887-022-03734-z
78. Bašković M, Ježek D. Letter to the Editor re "Effects of hypothermia and pentoxifylline on the adnexal torsion/detorsion injuries in a rat testis model." *Andrologia*. 2022;54(2):e14314. doi:10.1111/and.14314
79. Bašković M, Ježek D. Letter to the editor regarding "Long-term protective effects of the combination of intermittent reperfusion and hypothermia on reperfusion injury in an experimental testicular torsion model." *J Pediatr Surg*. 2022;57(5):951. doi:10.1016/j.jpedsurg.2021.11.017
80. Bašković M, Ježek D. Letter to the Editor: "Astaxanthin Reduces the Severity of Intestinal Damage in a Neonatal Rat Model of Necrotizing Enterocolitis." *Am J Perinatol*. Published online March 8, 2022. doi:10.1055/a-1768-3357
81. Hauptman D, Perić MH, Marić T, et al. Leydig Cells in Patients with Non-Obstructive Azoospermia: Do They Really Proliferate? *Life (Basel)*. 2021;11(11):1266. doi:10.3390/life11111266
82. Krsnik D, Marić T, Bulić-Jakuš F, Sinčić N, Bojanac AK. LIN28 Family in Testis: Control of Cell Renewal, Maturation, Fertility and Aging. *Int J Mol Sci*. 2022;23(13):7245. doi:10.3390/ijms23137245
83. Leke AZ, Dolk H, Loane M, et al. Macrolide and lincosamide antibiotic exposure in the first trimester of pregnancy and risk of congenital anomaly: A European case-control study. *Reprod Toxicol*. 2021;100:101-108. doi:10.1016/j.reprotox.2021.01.006
84. Serec K, Babic SD, Tomic S. Magnesium ions reversibly bind to DNA double stranded helix in thin films. *Spectrosc Acta Pt A-Molec Biomolec Spectr*. 2022;268:120663. doi:10.1016/j.saa.2021.120663
85. Himelreich-Perić M, Katusić-Bojanac A, Hohšterer M, Sinčić N, Mužić-Radović V, Ježek D. Mast Cells in the Mammalian Testis and Epididymis-Animal Models and Detection Methods. *Int J Mol Sci*. 2022;23(5):2547. doi:10.3390/ijms23052547
86. van de Putte R, van Rooij IALM, Haanappel CP, et al. Maternal risk factors for the VACTERL association: A EUROCAT case-control study. *Birth Defects Res*. 2020;112(9):688-98. doi:10.1002/bdr2.1686
87. Cleary B, Loane M, Addor MC, et al. Methadone, Pierre Robin sequence and other congenital anomalies: case-control study. *Arch Dis Child Fetal Neonatal Ed*. 2020;105(2):151-157. doi:10.1136/archdischild-2019-316804
88. Bašković M, Ježek D. Methotrexate-induced toxic effects and the ameliorating effects of astaxanthin on genitourinary tissues in a female rat model. *Arch Gynecol Obstet*. 2022;306(6):2199-2200. doi:10.1007/s00404-022-06488-2

89. Škara L, Vodopić T, Pezelj I, et al. Methylation pattern of Caveolin-1 in prostate cancer as potential cfDNA biomarker. *Bosn J Basic Med Sci*. Published online August 26, 2022. doi:10.17305/bjbm.2022.7497
90. Kardum V, Karin V, Glibo M, et al. Methylation-associated silencing of SFRP1 gene in high-grade serous ovarian carcinomas. *Ann Diagn Pathol*. 2017;31:45-9. doi:10.1016/j.anndiagpath.2017.07.002
91. Stipoljević F, Vujisić S, Ježek D, et al. Mid trimester amniotic fluid soluble receptor tunica interna endothelial cell kinase-2 levels and risk for preeclampsia. *Pregnancy Hypertens*. 2022;27:69-73. doi:10.1016/j.preghy.2021.12.009
92. Abramović I, Vrhovec B, Škara L, et al. MiR-182-5p and miR-375-3p Have Higher Performance Than PSA in Discriminating Prostate Cancer from Benign Prostate Hyperplasia. *Cancers*. 2021;13(9):2068. doi:10.3390/cancers13092068
93. Abramović I, Ulamec M, Katusic Bojanac A, Bulic-Jakus F, Jezek D, Sincic N. miRNA in prostate cancer: challenges toward translation. *Epigenomics*. 2020;12(6):543-558. doi:10.2217/epi-2019-0275
94. Dumic KK, Grubic Z, Yuen T, et al. Molecular genetic analysis in 93 patients and 193 family members with classical congenital adrenal hyperplasia due to 21-hydroxylase deficiency in Croatia. *J Steroid Biochem Mol Biol*. 2017;165(Pt A):51-56. doi:10.1016/j.jsbmb.2016.03.035
95. Serec K, Dolanski Babic S. Multivariate Analysis as a Tool for Quantification of Conformational Transitions in DNA Thin Films. *Appl Sci-Basel*. 2021;11(13):5895. doi:10.3390/app11135895
96. Muhaxheri G, Vucicevic Boras V, Fucic A, et al. Multivariate analysis of preoperative and postoperative neutrophil-to-lymphocyte ratio as an indicator of head and neck squamous cell carcinoma outcome. *Int J Oral Maxillofac Surg*. 2018;47(8):965-70. doi:10.1016/j.ijom.2018.02.011
97. Zmijanac Partl J, Karin V, Skrtic A, et al. Negative regulators of Wnt signaling pathway SFRP1 and SFRP3 expression in preterm and term pathologic placentas. *J Matern Fetal Neonatal Med*. 2018;31(22):2971-2979. doi:10.1080/14767058.2017.1359830
98. Karin-Kujundzic V, Covarrubias-Pinto A, Skrtic A, Vranic S, Serman L. New insight into the role of PTCH1 protein in serous ovarian carcinomas. *Int J Oncol*. 2022;61(6):145. doi:10.3892/ijo.2022.5435
99. Bobinec A, Measic A, Kero M, et al. Next generation sequencing in neonates presenting with collodion baby syndrome. *Eur J Hum Genet*. 2019;27:1275-1275.
100. Dujmicić F, Kovačević Ganić K, Čurić D, et al. Non-Thermal Ultrasonic Extraction of Polyphenolic Compounds from Red Wine Lees. *Foods*. 2020;9(4):472. doi:10.3390/foods9040472
101. Karin-Kujundzic V, Sola IM, Predavec N, et al. Novel Epigenetic Biomarkers in Pregnancy-Related Disorders and Cancers. *Cells*. 2019;8(11):1459. doi:10.3390/cells8111459
102. Cuerda C, Muscaritoli M, Donini LM, et al. Nutrition education in medical schools (NEMS). An ESPEN position paper. *Clin Nutr*. 2020;39(9):2938-9. doi:10.1016/j.clnu.2020.06.031
103. Bilić K, Vilaj M, Golubić-Čepulčić B, Ježek D. Ovarian tissue bank. *Croat Med J*. 2021;62(3):297-299. doi:10.3325/cmj.2021.62.297
104. Minina V, Timofeeva A, Torgunakova A, et al. Polymorphisms in DNA Repair and Xenobiotic Biotransformation Enzyme Genes and Lung Cancer Risk in Coal Mine Workers. *Life (Basel)*. 2022;12(2):255. doi:10.3390/life12020255
105. Fucic A, Galea KS, Duca RC, et al. Potential Health Risk of Endocrine Disruptors in Construction Sector and Plastics Industry: A New Paradigm in Occupational Health. *Int J Environ Res Public Health*. 2018;15(6):1229. doi:10.3390/ijerph15061229
106. Mamasoula C, Addor MC, Carbonell CC, et al. Prevalence of congenital heart defects in Europe, 2008-2015: A registry-based study. *Birth Defects Res*. Published online November 8, 2022. doi:10.1002/bdr2.2117
107. Sansović I, Knezević J, Matijević T, Balen S, Barisic I, Pavelić J. Prevalence of the 35delG mutation in the GJB2 gene of patients with nonsyndromic hearing loss from Croatia. *Genet Test*. 2005;9(4):297-300. doi:10.1089/gte.2005.9.297
108. Morris JK, Garne E, Loane M, et al. Prevalence of valproate syndrome in Europe from 2005 to 2014: A registry based multi-centre study. *Eur J Med Genet*. 2018;61(9):479-482. doi:10.1016/j.ejmg.2018.05.008
109. Morris JK, Wellesley D, Limb E, et al. Prevalence of vascular disruption anomalies and association with young maternal age: A EUROCAT study to compare the United Kingdom with other European countries. *Birth Defects Res*. Published online November 11, 2022. doi:10.1002/bdr2.2122
110. Morris JK, Addor MC, Ballardini E, et al. Prevention of Neural Tube Defects in Europe: A Public Health Failure. *Front Pediatr*. 2021;9:647038. doi:10.3389/fped.2021.647038
111. Škara L, Hudek Turković A, Pezelj I, et al. Prostate Cancer—Focus on Cholesterol. *Cancers (Basel)*. 2021;13(18):4696. doi:10.3390/cancers13184696
112. Planinić A, Marić T, Bojanac AK, Ježek D. Reinke crystals: Hallmarks of adult Leydig cells in humans. *Andrology*. 2022;10(6):1107-1120. doi:10.1111/andr.13201
113. Kordić M, Tomić D, Soldo D, Hauptman D, Ježek D. Reinke's crystals in perivascular and peritubular Leydig cells of men with non-obstructive and obstructive azoospermia: a retrospective case control study. *Croat Med J*. 2019;60(2):158-165. doi:10.3325/cmj.2019.60.158
114. Fucic A, Duca RC, Galea KS, et al. Reproductive Health Risks Associated with Occupational and Environmental Exposure to Pesticides. *Int J Environ Res Public Health*. 2021;18(12):6576. doi:10.3390/ijerph18126576
115. Bašković M, Ježek D. Response to Letter to the Editor re The effect of astaxanthin on testicular torsion-detorsion injury in rats - Detailed morphometric evaluation of histological sections. *J Pediatr Urol*. 2022;18(1):100-101. doi:10.1016/j.jpuro.2021.10.018
116. Rütter J, Boban L, Paus C, et al. Risk and Influence Factors of Fall in Immobilization Period after Arthroscopic Interventions. *J Pers Med*. 2022;12(11):1912. doi:10.3390/jpm12111912
117. Fucic A, Druzhinin V, Aghajanyan A, et al. Rogue versus chromothriptic cell as biomarker of cancer. *Mutat Res Rev Mutat Res*. 2020;784:108299. doi:10.1016/j.mrrev.2020.108299
118. Bumber B, Kavanagh MM, Jakovcevic A, Sincic N, Prstacic R, Prgomet D. Role of matrix metalloproteinases and their inhibitors in the development of cervical metastases in papillary thyroid cancer. *Clin Otolaryngol*. 2020;45(1):55-62. doi:10.1111/coa.13466
119. Bašković M, Knežević N, Ježek D. Scrotal cooling as a protective method in tissue preservation after testicular torsion. *Cent European J Urol*. 2021;74(4):601-2. doi:10.5173/cej.2021.0244
120. Marić T, Wójcik I, Katusić Bojanac A, et al. Seminal plasma N-glycome as a new biomarker of environmental exposure associated with semen quality. *Reprod Toxicol*. 2022;113:96-102. doi:10.1016/j.reprotox.2022.08.005
121. Maric T, Katusic Bojanac A, Matijevic A, et al. Seminal Plasma Protein N-Glycan Peaks Are Potential Predictors of Semen Pathology and Sperm Chromatin Maturity in Men. *Life (Basel)*. 2021;11(9):989. doi:10.3390/life11090989
122. Šemanjski K, Majdić G, Kozina V, Ježek D. Sexual dimorphism of the extraorbital lacrimal glands in SF-1 knockout mice. *Acta Histochem*. 2021;123(2):151669. doi:10.1016/j.acthis.2020.151669
123. Cavadinò A, Sandberg L, Öhman I, et al. Signal Detection in EUROmediCAT: Identification and Evaluation of Medication-Congenital Anomaly Associations and Use of VigiBase as a Complementary Source of Reference. *Drug Saf*. 2021;44(7):765-85. doi:10.1007/s40264-021-01073-z
124. Vucicevic Boras V, Fucic A, Virag M, et al. Significance of stroma in biology of oral squamous cell carcinoma. *Tumori*. 2018;104(1):9-14. doi:10.5301/tj.5000673
125. Mioc P, Kujundzic VK, Matijevic R, Skrtic A, Vranic S, Serman L. Smoothed Protein Expression and Promoter Methylation Status in Serous Ovarian Carcinomas. *Int J Gynecol Cancer*. 2019;29:A495-A496. doi:10.1136/ijgc-2019-ESGO.969
126. Babić SD, Serec K. Sodium and manganese salt DNA thin films: An infrared spectroscopy study. *Spectrochimica Acta Part A: Molecular and Biomolecular Spectroscopy*. 2020;241:118646. doi:10.1016/j.saa.2020.118646
127. van de Putte R, van Rooij IALM, Marcelis CLM, et al. Spectrum of congenital anomalies among VACTERL cases: a EUROCAT population-based study. *Pediatr Res*. 2020;87(3):541-549. doi:10.1038/s41390-019-0561-y
128. Mokos M, Planinić A, Bilić K, et al. Stereological properties of seminiferous tubules in infertile men with chromosomal and genetic abnormalities. *Minerva Endocrinol (Torino)*. 2022;47(1):11-22. doi:10.23736/S2724-6507.21.03589-2
129. Fucic A, Aghajanyan A, Čulig Z, Le Novere N. Systems Oncology: Bridging Pancreatic and Castrate Resistant Prostate Cancer. *Pathol Oncol Res*. 2019;25(4):1269-77. doi:10.1007/s12253-018-0467-8
130. Santoro M, Coi A, Pierini A, et al. Temporal and geographical variations in survival of children born with congenital anomalies in Europe: A multi-registry cohort study. *Paediatr Perinat Epidemiol*. 2022;36(6):792-803. doi:10.1111/ppe.12884
131. Krasic J, Škara L, Ulamec M, et al. Teratoma Growth Retardation by HDACi Treatment of the Tumor Embryonal Source. *Cancers (Basel)*. 2020;12(11):3416. doi:10.3390/cancers12113416
132. Potočnjak I, Crumbach ME, Hrgetić Vitols AM, et al. The attitudes of international medical students toward educational methods and styles applied in a 6-year longitudinal course in fundamentals of medical skills in Croatia. *Croat Med J*. 2018;59(5):267-73. doi:10.3325/cmj.2018.59.267
133. Bašković M, Bojanac AK, Sinčić N, Perić MH, Krsnik D, Ježek D. The effect of astaxanthin on testicular torsion-detorsion injury in rats - Detailed morphometric evaluation of histological sections. *J Pediatr Urol*. 2021;17(4):439.e1-439.e12. doi:10.1016/j.jpuro.2021.03.020
134. Fucic A, Starcevic M, Dessardo NS, et al. The Impact of Mother's Living Environment Exposure on Genome Damage, Immunological Status, and Sex Hormone Levels in Newborns. *Int J Environ Res Public Health*. 2020;17(10):3402. doi:10.3390/ijerph17103402

135. Tylki-Szymanska A, Almásy Z, Christophidou-Anastasiadou V, et al. The landscape of Mucopolysaccharidosis in Southern and Eastern European countries: a survey from 19 specialist centers. *Orphanet J Rare Dis.* 2022;17(1):136. doi:10.1186/s13023-022-02285-x
136. Glibo M, Serman A, Karin-Kujundžić V, et al. The role of glycogen synthase kinase 3 (GSK3) in cancer with emphasis on ovarian cancer development and progression: A comprehensive review. *Bosn J Basic Med Sci.* 2021;21(1):5-18. doi:10.17305/bjbm.2020.5036
137. Skoda AM, Simović D, Karin V, Kardum V, Vranic S, Serman L. The role of the Hedgehog signaling pathway in cancer: A comprehensive review. *Bosn J Basic Med Sci.* 2018;18(1):8-20. doi:10.17305/bjbm.2018.2756
138. Muršić M, Sjekavica I, Šimunović M, Ježek D. The role of ultrasound elastography in the diagnosis of pathologic conditions of testicles and scrotum. *Acta Clin Croat.* 2021;60(1):41-49. doi:10.20471/acc.2021.60.01.06
139. Sansovic I, Bobinec A, Measic A, Kero M, Barisic I. The simultaneous presence of microcephaly, seizures, and developmental delay due to PNKP gene mutation and infantile hypophosphatasia caused by mutation in ALPL gene. *Eur J Hum Genet.* 2020;28(SUPPL 1):350-350.
140. Krasic J, Skara L, Bojanac AK, et al. The utility of cfDNA in TGCT patient management: a systematic review. *Ther Adv Med Oncol.* 2022;14:17588359221090364. doi:10.1177/17588359221090364
141. Himelreich Perić M, Mužić-Radović V, Marić T, et al. Transmembranous and endochondral osteogenesis in transplants of rat limb buds cultivated in serum- and protein-free culture medium. *Anat Histol Embryol.* 2022;51(5):592-601. doi:10.1111/ah.12835
142. Morris JK, Springett AL, Greenlees R, et al. Trends in congenital anomalies in Europe from 1980 to 2012. *PLoS One.* 2018;13(4):e0194986. doi:10.1371/journal.pone.0194986
143. Bašković M, Župančić B, Vukasović I, Štimac-Rojtnić I, Ježek D. Validation of a TWIST Score In Diagnosis of Testicular Torsion – Single-Center Experience. *Klin Padiatr.* 2019;231(4):217-219. doi:10.1055/a-0826-4885
144. Zaninović L, Bašković M, Ježek D, Katušić Bojanac A. Validity and Utility of Non-Invasive Prenatal Testing for Copy Number Variations and Microdeletions: A Systematic Review. *J Clin Med.* 2022;11(12):3350. doi:10.3390/jcm11123350
145. Katusic-Bojanac A, Plazibat M, Himelreich-Peric M, et al. Valproate Targets Mammalian Gastrulation Impairing Neural Tissue Differentiation and Development of the Placental Source In Vitro. *Int J Mol Sci.* 2022;23(16):8861. doi:10.3390/ijms23168861
146. van Schie JJM, Faramar A, Balk JA, et al. Warsaw Breakage Syndrome associated DDX11 helicase resolves G-quadruplex structures to support sister chromatid cohesion. *Nat Commun.* 2020;11(1):4287. doi:10.1038/s41467-020-18066-8.

**Marko Bašković, Ana Katušić Bojanac, Nino Sinčić,
Florijana Bulić Jakuš, Aleksandra Fučić, Ljiljana Šerman,
Sanja Dolanski Babić i Davor Ježek**

Znanstveni centar izvrsnosti za temeljnu, kliničku i translacijsku neuroznanost

Znanstvena produktivnost istraživača u razdoblju 2018. do 2022. godine

U sklopu našeg Znanstvenog centra izvrsnosti (ZCI) za temeljnu, kliničku i translacijsku neuroznanost, istraživanja se financiraju iz različitih međunarodnih i domaćih kompetitivnih projekata (npr. Horizon 2020, UKF, HRZZ projekti). No ključna financijska potpora za rad ZCI-ja dobivena je u sklopu projekta KK.01.1.1.01.0007 pod naslovom Eksperimentalna i klinička istraživanja hipoksijsko-ishemijskog oštećenja mozga u perinatalnoj i odrasloj dobi. Projekt financira EU, a službeno je započeo 1. prosinca 2017. godine. Zbog toga u ovom izvješću navodimo samo one objavljene radove naših istraživača, koji su u bazi Scopus zabilježeni od 1. 12. 2017. do 30. 11. 2022., te u kojima je izrijekom navedeno da su financirani i izrađeni u sklopu rada našeg ZCI-ja. Pritom smo naveli samo radove u kojima su za nas ključni autori djelatnici Medicinskog fakulteta Sveučilišta u Zagrebu (to jest, da u adresi rada postoji adresa Medicinskog fakulteta).

U navedenom su razdoblju naši istraživači objavili ukupno 133 takva rada (popis na kraju teksta). Vrijedi istaknuti da je više od 50 % tih radova objavljeno u časopisima koji spadaju u Q1 i/ili Q2 kategoriju, a više od 60 % tih radova objavljeno

je u časopisima koji imaju čimbenik odjeka (eng. *impact factor, IF*) veći od 3. Iako je riječ o kratkom razdoblju od svega 5 godina, te kontinuiranoj godišnjoj produktivnosti (što znači da je za mnoge radove od njihove objave do danas proteklo svega nekoliko mjeseci ili 1 do 2 godine), vrijedi također istaknuti da su ti radovi dosad u bazi Scopus prikupili već 1.144 citata.

Na kraju, treba spomenuti da je u istom razdoblju čak 21 doktorand uključen u rad našeg ZCI-ja uspješno dovršio i obranio svoj doktorski rad te stekao akademski stupanj doktora znanosti.

Miloš Judaš

Popis publikacija (N = 133) objavljenih tijekom proteklih 5 godina i registriranih u bazi Scopus

1. Sternak, M., Glasnović, A., Josić, P., Romić, D., Gajović, S. The effects of splenectomy in murine models of ischemic stroke: a systematic review and meta-analysis (2022) *Journal of Neuroinflammation*, 19 (1).