

NASTAVNO-NAUČNOM VEĆU HEMIJSKOG FAKULTETA UNIVERZITETA U BEOGRADU

Na redovnoj sednici Nastavno-naučnog veća Hemijskog fakulteta Univerziteta u Beogradu, održanoj 10.03.2015. godine, određeni smo za članove Komisije za pregled, ocenu i odbranu doktorske disertacije diplomiranog biohemičara-mastera Jelene Janković, istraživača saradnika Instituta za primenu nuklearne energije-INEP u Zemunu, pod naslovom:

„Analiza proteinskih i genetičkih biomarkera u preoperativnoj i postoperativnoj diferencijalnoj dijagnostici tumora štitaste žlezde”.

Pošto smo podnetu disertaciju pregledali, podnosimo Nastavno-naučnom veću sledeći

IZVEŠTAJ

A. Prikaz sadržaja disertacije

Doktorska disertacija Jelene Janković, napisana je na 119 strana A4 formata i sadrži 24 slike, 11 grafika i 17 tabela. Rad obuhvata sledeća poglavlja: Uvod (38 strana), Materijal i metode (16 strana), Rezultati (31 strana), Diskusija (11 strana), Zaključci (4 strane) i Literatura (13 strana, 259 citata). Pored navedenog, disertacija sadrži Izvod na srpskom i engleskom jeziku (po 2 strane), Sadržaj, Listu skraćenica i Biografiju kandidata.

Uvod obuhvata tri celine. U prvoj celini je opisana građa štitaste žlezde, mehanizam sinteze hormona štitaste žlezde, njihova funkcija i regulacija, i dat je pregled poremećaja u radu štitaste žlezde. Druga celina govori o tumorima tiroidee, opisani su faktori rizika za razvoj karcinoma, kao i incidenca i mortalitet karcinoma štitaste žlezde. Dat je pregled tumorskih lezija štitaste žlezde prema klasifikaciji Svetske zdravstvene organizacije i opisane metode preoperativne i postoperativne dijagnostike. U trećoj celini dat je kratak pregled serumskih, proteinskih i genetičkih biomarkera koji se koriste u dijagnostici kancera tiroidee ili su u fazi ispitivanja. Na kraju su detaljno obrađeni markeri koji su ispitivani u disertaciji – dat je pregled strukture, lokalizacije i funkcije sledećih markera: kaveolina-1, V600E *BRAF* gena, gena *RET/PTC1* i 3 rearanžmana, EGFR i EGFRvIII mutacije.

U poglavlju **Cilj istraživanja**, kandidatkinja je kao cilj postavila ispitivanje dijagnostičkog i prognostičkog potencijala odabranih proteinskih i genetičkih biomarkera koji oslikavaju promene na nivou DNK, RNK i proteina. Zadaci koji su postavljeni su uključivali: (a) da se odabrani biomarkeri ispituju u uzorcima pacijenata sa tumorima štitaste žlezde dobijenih posle operacije, npr. na svežem postoperativnom tkivu i arhivskom materijalu; (b) da se njihov dijagnostički i prognostički potencijal ispita u uzorcima biopsija tankom iglom i (c) da se grupišu ispitivani markeri koji imaju najveći dijagnostički potencijal u dijagnostički test, i da se ispita u kojoj meri takav test može da doprinese diferencijalnoj dijagnostici karcinoma štitaste žlezde.

Materijali i metode sadrže detaljan opis eksperimentalnih procedura i uzoraka korišćenih u okviru doktorske disertacije.

U poglavlju **Rezultati** prikazani su rezultati po redosledu definisanom u poglavlju Cilj istraživanja. Rezultati su grupisani u tri celine. Prva celina prikazuje rezultate analize markera na postoperativnim uzorcima tkiva štitaste žlezde. Predstavljeno je ispitivanje ekspresije kaveolina-1 na proteinskom i transkripcionom nivou metodama imunohistohemije odnosno *real time* PCR, u benignim i malignim lezijama. Ispitana je i tkivna lokalizacija kaveolina-1 u papilarnim tiroidnim karcinomima (PTC), kao i učestalost P132L mutacije u *CAV1* genu. U ovoj celini su prikazani i rezultati analize učestalosti *BRAF* V600E mutacije u papilarnim karcinomima štitaste žlezde, mereni alel-specifičnim PCR-om, i raspodela proteina kaveolina-1 u tkivnim odeljcima PTC prema *BRAF* mutacionom statusu. Prikazani su i rezultati analize dijagnostičkog i prognostičkog potencijala kaveolina-1.

Druga celina obuhvata prikaz rezultata analize odabranih markera na uzorcima biopsija. Prvo je predstavljena analiza dijagnostičkog potencijala serumskih markera (hormona i antitela) kod pacijenata koji su podvrgnuti biopsijama. Prikazani su zatim rezultati analize ekspresije kaveolina-1 određivane imunocitohemijski na citospin preparatima uzoraka biopsija. Nakon toga, predstavljeni su rezultati analize prisustva mutacija (*BRAF* V600E, *RET/PTC1* i 3 i *EGFRvIII*) u uzorcima biopsija mereni alel-specifičnim ili *real time* PCR metodama.

Treća celina prikazuje rezultate određivanja analize povezanosti markera agresivnosti kancera sa *BRAF* V600E statusom i ekspresijom kaveolina-1. U uzorcima koji su podeljeni prema dijagnozi, ekspresiji kaveolina-1 i *BRAF* statusu analizirana je ekspresija *EGFR* na *real time* PCR. Konačno, dati su rezultati analize dijagnostičkog potencijala kombinacije navedenih biomarkera.

U poglavlju **Diskusija** su u četiri celine prodiskutovani najznačajniji rezultati. U prvom delu je diskutovan dijagnostički i prognostički potencijal kaveolina-1. Druga celina se bavi diskusijom rezultata analize zastupljenosti *BRAF* V600E mutacija u analiziranim tiroidnim lezijama. Treći deo predstavlja diskusiju povezanosti ekspresije kaveolina-1 i *BRAF* mutacija, dok je u četvrtom delu diskutovana međusobna povezanost ekspresije kaveolina-1, ekspresije *EGFR* i *BRAF* mutacije.

U **Zaključku** je kandidatkinja sumirala i prodiskutovala dobijene rezultate.

U poglavlju **Literatura** navedeni su radovi iz oblasti istraživanja, koji iscrpno pokrivaju sve delove disertacije.

B. Kratak prikaz rezultata

U ovom radu je ispitan potencijal odabranih proteinskih i genetičkih biomarkera za upotrebu u dijagnostici i prognostici karcinoma štitaste žlezde.

Na postoperativnim arhivskim uzorcima tumora štitaste žlezde (n=46) je imunohistohemijski ispitana proteinska ekspresija kaveolina-1, gde je pokazano da se on drugačije eksprimira u benignim i malignim lezijama. Utvrđena je statistički značajna razlika u nivou ekspresije između folikularnih adenoma i peritumorskog (normalnog) tkiva, kao i između folikularnih adenoma i folikularne varijante papilarnog karcinoma. *Receiver Operating Curve* (ROC) analizom su ispitane dijagnostičke performanse kaveolina-1 i pokazano je da kaveolin-1 može da razlikuje histotipove slične morfologije, odnosno papilarni karcinom folikularne histološke varijante i folikularni adenom. Ekspresija gena za kaveolin-1 je određena pomoću *real time* PCR u svežem tkivu benignih i malignih lezija (n=50). Iako je utvrđen sličan trend, nije pokazana statistički značajna razlika između različitih vrsta tumora u ekspresiji kaveolina-1 na nivou transkripcije. Na istim uzorcima kojima je dodato još 23 slučaja, analizirana je i učestalost *CAV1* P132L mutacije, koja je, metodom alel-specifičnog PCR-a, detektovana u malom procentu (7%) i nije pokazala značajnu razliku između benignih i malignih slučajeva. Na uzorcima papilarnih karcinoma (n=49) određena je ukupna ekspresija kaveolina-1, imunoblot analizom ekspresije u tkivnim lizatima. Kod istih slučajeva je imunohistohemijski analizirana ekspresija i uočena je obrnuta ekspresija kaveolina-1: u pogledu lokalizacije kaveolin-1 se različito bojio u stromalnom i epitelnom odeljku. Ukupna srednja ocena imunoekspresije je bila veća u stromalnom, nego u epitelnom odeljku. Kod ovih uzoraka je alel-specifičnim PCR-om ispitana je i učestalost *BRAF* V600E mutacija, koja je detektovana u 35% slučajeva. Prisustvo ove mutacije je koreliralo pozitivno sa parametrima lošije prognoze. Primećeno je i da ekspresija kaveolina-1 u epitelnom odeljku pozitivno koreliše sa *BRAF* mutacijom, dok je ekspresija u stromalnom odeljku u negativnoj korelaciji sa prisustvom *BRAF* V600E. Utvrđeno je i da epitelni kaveolin-1 koreliše pozitivno i sa prisustvom limfnih metastaza, dok je stromalna ekspresija korelirala negativno sa dubinom neoplastične infiltracije.

Od pacijenata kojima je urađena biosija tankom iglom (n=274) uzeto je aspirirano tkivo za analizu proteinskih i genetičkih markera, i sakupljeni podaci o serumskim nivoima hormona (tirostimulirajuću hormon, trijodtironin i slobodni trijodtironin, tiroksin i slobodni tiroksin, paratiroidni hormon, kalcitonin, tiroglobulin) kao i auto-antitela (anti-tiroglobulinska antitela, antitela na tiroidnu peroksidazu i anti-TSH receptorska antitela) povezanih sa funkcijom štitaste žlezde. Ovi parametri su analizirani u cilju određivanja razlika u njihovim nivoima proizvodnje između benignih i malignih lezija, i pokazano je da se serumski nivoi trijodtironina značajno

razlikuju. U citospin preparatima dobijenih od aspirata je imunocitohemijski analizirana ekspresija kaveolina-1. Utvrđena je statistički značajna razlika u ekspresiji, jer je kaveolin-1 bio češće ekspresiran u malignim uzorcima. Kandidatkinja je nadalje ispitala prisustvo četiri genetička markera i to: *BRAF* V600E mutacije, *RET/PTC1* i *RET/PTC3* hromozomskih rearanžmana i EGFRvIII mutacije. Statistički značajna razlika u učestalosti ovih mutacija je uočena samo kod *BRAF* V600E mutacije, koja je u većem procentu zabeležena kod malignih uzoraka. Ovi rezultati su izdvojili sledeće markere koji mogu doprineti poboljšanju preoperativne dijagnostike karcinoma štitaste žlezde - serumski nivo hormona trijodtironina, proteinska ekspresija kaveolina-1 i prisustvo *BRAF* V600E mutacija.

U sledećem koraku pacijenti su prema finalnoj dijagnozi, ekspresiji kaveolina-1 i *BRAF* statusu podeljeni u grupe (n=95). Nivoi trijodtironina nisu uzeti za stratifikaciju pacijenata zbog nedovoljnog broja pacijenata. Kandidatkinja je statističkom analizom uporedila agresivnost karcinoma u formiranim grupama i uočeno je da se viši nivoi kaveolina-1 i *BRAF* V600E mutacija javljaju u slučajevima sa većim stepenom tumorske infiltracije i većim patohistološkim T statusom. Iz svake grupe je odabrano sedam uzoraka (ukupno 35 slučajeva) i kod njih je *real time* PCR metodom merena ekspresija gena za EGFR, gde je statistički značajno veća ekspresija uočena u malignim uzorcima sa negativnim kaveolinom-1 i *BRAF* V600E. Nivoi EGFR su pokazali negativnu asocijaciju sa nivoima kaveolina-1 u epitelnim ćelijama, i ovaj obrnuti trend je potvrđen i u uzorcima karcinoma analiziranim imunofluorescencijom. U pogledu povezanosti sa progresijom bolesti, visoki nivoi EGFR su detektovani u grupi sa niskim stepenom infiltracije i pT statusom. Finalno je analiziran dijagnostički potencijal kombinacije ovih markera, tj. proteinske ekspresije kaveolina-1, *BRAF* statusa i ekspresije gena za EGFR, koja je pokazala nešto veću diskriminatornu moć od citološke analize (62,5%, nasuprot 57,7%).

Opšti zaključak kandidatkinje je da se preoperativna dijagnostika može unaprediti korišćenjem pojedinačnih molekularnih markera, posebno njihove kombinacije, kao i da se oni mogu koristiti u odvajanju pacijenata sa agresivnijim lezijama. Takođe, njihova povezanost ukazuju na mogućnost međusobnog regulatornog uticaja.

C. Uporedna analiza rezultata kandidata sa rezultatima iz literature

Karcinom štitaste žlezde čini 2,1% svih karcinoma u svetu, međutim njegova incidenca se u poslednjih trideset godina uvećava u skoro svim regijama sveta. U Srbiji je takođe zabeležen porast incidence - broj obolelih od kancera štitaste žlezde se u proteklih 20 godina uvećava za 13% godišnje. Suprotno tome, mortalitet kod tiroidnog karcinoma ne raste istom brzinom, a u nekim delovima sveta i opada.

Pretpostavlja se da je porastu incidence u velikoj meri doprinelo uvođenje lako dostupne dijagnostičke metode biopsije tankom iglom (engl. *Fine Needle Aspiration Biopsy* - FNAB). FNAB je omogućila detekciju malih, asimptomatskih karcinoma, u ranom stadijumu kada ih je

Iako lečiti. Budući da je pre toga tačna dijagnoza karcinoma štitaste žlezde mogla biti postavljena jedino patohistološkom analizom tkiva štitaste žlezde dobijenog operacijom, citološka analiza uzoraka dobijenih pomoću FNAB je značajno smanjila broj pacijenata koji se operišu radi utvrđivanja dijagnoze.

Međutim, preoperativna dijagnostika je donela nov niz nedoumica. Naime, približno 10-20% FNAB uzoraka nije zadovoljavajućeg kvaliteta za analizu, zbog nedovoljnog broja ćelija u aspiriranom materijalu. Najveći problem, ipak, leži u tome što se citološkom analizom u približno 30% slučajeva, ne može utvrditi da li je lezija benigna ili maligna. Svi slučajevi sa neodređenom citološkom dijagnozom se šalju na operaciju radi utvrđivanja dijagnoze. Kod više od trećine se utvrdi da je lezija benigna, odnosno da je operacija bila suvišna. Pacijenti kod kojih se potvrdi malignitet, najčešće se upućuju na drugu operaciju, radi totalnog uklanjanja tkiva štitaste žlezde.

Iako je zlatni standard u dijagnostici karcinoma štitaste žlezde patohistološka analiza postoperativnih uzoraka, i kod ove metode postoje otežavajući faktori. U postoperativnoj dijagnostici najveću nedoumicu predstavlja razlikovanje lezija sa folikularnom morfologijom, npr. folikularnog adenoma od folikularnog karcinoma i folikularne varijante papilarnog karcinoma. Budući da je jedini dijagnostički kriterijum za razlikovanje folikularnih karcinoma od folikularnih adenoma invazija kapsule, potrebno je pronaći presek tkiva na kome se invazija može potvrditi.

U pogledu prognostike karcinoma štitaste žlezde, korisno je odrediti njegov metastatski potencijal preoperativno. Naime, pitanje je debate da li je male karcinome, neagresivne prirode, potrebno operisati, jer zbog njihove indolentne prirode oni najverovatnije ne bi izazvali nikakve simptome i bez terapije. Isto tako, kod agresivnijih lezija, mogla bi se primeniti opsežnija operacija.

Ovi problemi ukazuju da je potrebno razviti dodatne testove koji bi pomogli u dijagnostifikovanju maligniteta i određivanju njegovog karaktera. U cilju rešavanja ovih nedoumica koriste se različiti biomarkeri (proteinski i genetički). Do sada se ipak nijedan marker, ili kombinacija markera, nije pokazala dovoljno pouzdanom za razlikovanje benignih i malignih, odnosno histološki sličnih lezija, ali postoji određeni broj pomoćnih markera koji mogu pomoći u dijagnostičkom odlučivanju. Oni se mogu određivati u serumu, u uzorcima tkiva dobijenih punkcijom ili nakon operacije.

Serumski biomarkeri (kalcitonin, tireoglobulin, tireostimulirajući hormon) su prva generacija markera u dijagnostici tumora tiroidee, koji se koriste za postavljanje dijagnoze ili postoperativno praćenje pacijenta.

Proteinski markeri, koji se određuju imunocitohemijski ili imunohistohemijski, predstavljaju molekule uključene u različite ćelijske procese. Najbolje ispitani proteinski markeri obuhvataju galektin-3, citokeratin-19 (CK19) i *Hector Batiffora Mesotelial Antigen-1* (HBME-

1). Njihovi dijagnostički potencijali su različiti, pa tako HBME-1 pokazuje visoku specifičnost, ali nisku osjetljivost, dok je galektin-3 osjetljiv, ali nedovoljno specifičan marker.

U pogledu genetičkih markera, ispitivane su tačkaste mutacije i genski rearanžmani čija prednost leži u visokoj specifičnosti. Za tiroidni kancer su najčešće mutacije članova MAPK signalnog puta: *BRAF*, *RAS* mutacije, *RET/PTC* i *NTRK1* genski rearanžmani. Pored njih, u određenoj meri su detektovane i mutacije u genima za *TP53*, *CTNNB1*, *TERT*, *PI3KCA* i *PTEN*, kao i rearanžmani *NTRK1* i *AKAP9/BRAF*. U malom procentu se javljaju *EIF1AX* mutacije. Kombinovanjem gena sa različitim mutacijama je dizajniran *ThyroSeq* dijagnostički panel koji pokazuje dobre rezultate za primenu u svakodnevnoj kliničkoj praksi, ali su potrebne veće, multicentrične studije da bi njegov dijagnostički potencijal bio detaljno ispitan. Problem kod korišćenja genetičkih markera predstavlja činjenica da oko 30% malignih lezija nema nijednu od gore navedenih mutacija, što snižava osjetljivost DNK markera.

Ekspresija gena je takođe analizirana i različite studije su pokazale da je za dijagnostiku i prognostiku karcinoma tiroidee korisno paralelno pratiti ekspresiju različitih gena. U tom pogledu, najznačajniji rezultat je postigla kompanija *Veracyte* koja je kreirala dijagnostički test koji meri ekspresiju 167 gena. Test je veoma dobar za odlučivanje da li je lezija benigna, s obzirom da daje lažno negativne rezultate u oko 5% slučajeva, međutim njegova specifičnost doseže do 70%. Na nivou ekspresije ispitivani su i nivoi mikroRNK, čija je proizvodnja povećana ili smanjena u slučaju maligniteta. Kod tiroidnih karcinoma je nekoliko različitih panela mikroRNK molekula pokazalo dobre dijagnostičke parametre, i predloženi su za upotrebu u uzorcima FNA biopsija ili seruma pacijenata. Ipak, iako je upotreba mikroRNK korisna za potvrdu maligniteta, njihovo određivanje je relativno skupo i još uvek nije sa sigurnošću određen panel miRNK koji treba koristiti.

U ovoj disertaciji je pokazan potencijal kaveolina-1, V600E *BRAF* gena i EGFR kao markera za upotrebu u dijagnostici karcinoma štitaste žlezde. Kandidatkinja je utvrdila da proteinski marker kaveolin-1 ima potencijal za upotrebu u preoperativnoj dijagnostici, jer pokazuje veću ekspresiju u malignim u poređenju sa benignim lezijama. Kaveolin-1 takođe ima potencijal i kao imunohistohemijski marker u patohistološkoj analizi, pošto može da razlikuje lezije folikularne morfologije, tj. folikularne adenome od folikularne varijante papilarnog karcinoma. Tačkasta mutacija *BRAF* V600E je ranije pokazala potencijal za razlikovanje papilarnih karcinoma od drugih karcinoma, i u ovoj disertaciji je potvrđeno da je prisutna gotovo samo u malignim lezijama papilarne morfologije. U dijagnostičke svrhe je ispitan i nivo ekspresije EGFR za koji se pokazalo da je različit u zavisnosti od nivoa kaveolina-1 i *BRAF* V600E statusa, jer su visoki nivoi EGFR detektovani u grupi pacijenata sa niskim kaveolinom-1 i *wild type BRAF*. Kandidatkinja je, konačno, pokazala da molekularni test sastavljen od proteinske ekspresije kaveolina-1, *BRAF* V600E mutacije i ekspresije gena za EGFR u određenoj meri nadmašuje dijagnostičke performanse citološke analize. Naime, ovaj molekularni klasifikator meri biomarkere na tri različita nivoa, i to DNK, RNK i proteinskom, što znači da se celokupna količina materijala iz jednog uzorka može iskoristiti za analizu. Osim toga, ovi markeri se

određuju lako dostupnim metodama, što otvara mogućnost prenošenja ovakvog testa u kliničko okruženje.

Pored poboljšavanja dijagnostičke moći, ovi markeri su pokazali i povezanost sa parametrima agresivnosti karcinoma. Caveolin-1 ekspresiran u tirocitima i *BRAF* V600E mutacija su pozitivno korelisali sa kliničko-patološkim parametrima (dubinom neoplastične infiltracije, pT statusom), te kandidatkinja nalazi da bi se njihovim određivanjem kod pacijenata sa karcinomom moglo predvideti njegovo širenje i tok bolesti. Visok EGFR, suprotno tome, se javlja kod pacijenata sa manje agresivnim karcinomima, što ukazuje na mogućost njegove upotrebe kao negativnog markera metastatskog karaktera karcinoma. Rezultati ove disertacije su ukazali i na postojanje korelacija između nivoa samih markera, tj. pozitivne asocijacije ekspresije caveolina-1 u tirocitima sa *BRAF* V600E mutacijom, a negativne sa ekspresijom EGFR. Kandidatkinja nalazi da ovaj rezultat otvara mogućnost njihovog međusobnog regulatornog uticaja, i da bi mogao podstaći istraživanja koja bi utvrdila ovakve pretpostavke.

D. Objavljeni radovi i saopštenja koji čine deo disertacije

Radovi u vrhunskim međunarodnim časopisima (M21)

1. S. Paskaš, **J. Janković**, I. Marečko, T. Išić-Denčić, S. Tatić, D. Cvejić, S. Savin: Caveolin-1 expression in papillary thyroid carcinoma: correlation with clinicopathological parameters and BRAF mutation status. *Otolaryngology-Head And Neck Surgery* (2014), vol. 150 br. 2, str. 201-209 (IF 2,020, Kategorija Otorinolaringologija 11/44 u 2014).

2. **J. Janković**, S. Tatić, V. Božić, V. Živaljević, D. Cvejić, S. Paskaš: Inverse expression of caveolin-1 and EGFR in thyroid cancer patients. *Human Pathology*, Rad u štampi (IF 2,791, Kategorija Patologija 22/78 u 2015).

Rad u istaknutom međunarodnom časopisu (M22)

1. **J. Janković**, S. Paskaš, I. Marečko, V. Božić, D. Cvejić, S. Savin: Caveolin-1 expression in thyroid neoplasia spectrum: Comparison of two commercial antibodies. *Disease Markers* (2012), vol. 33 br. 6, str. 321-331 (IF 2,140, Kategorija Medicina, istraživačka i eksperimentalna 66/121 u 2012).

Saopštenja sa međunarodnih skupova štampana u izvodu (M34)

1. **J. Janković**, I. Marečko, S. Tatić, V. Božić, D. Cvejić, S. Savin: Immunohistochemical analysis of caveolin-1 in follicular cell derived thyroid gland tumours. 37th FEBS Congress: From Single Molecules to Systems Biology, Sevilla, 2012. *FEBS Journal* (2012), vol. 279, str. 106.

2. S. Paskaš, **J. Janković**, I. Marečko, V. Božić, D. Cvejić, S. Savin: Caveolin-1 in diagnosis and prognosis of papillary thyroid cancer: comparison of two commercial antibodies. 36th Annual Meeting of the European Thyroid Association, Pisa, Italy, 2012. *Eur Thyroid J* (2012); 1 suppl 1, 142-142.

3. **J. Janković**, S. Paskaš, I. Marečko, T. Išić Denčić, S. Tatić, D. Cvejić, S. Savin: Expression Analysis of Caveolin-1 in Papillary Thyroid Carcinoma with Relation to Clinicopathological Parameters and BRAF Mutation Status. FEBS3+ Meeting: Molecules of Life, Portorož, 2015. *Book of Abstracts*, str. 258.

Saopštenje sa skupa nacionalnog značaja štampano u celini (M63)

1. **J. Janković**, V. Živaljević, S. Tatić, V. Božić, D. Cvejić, S. Paskaš: Malignant risk stratification of fine needle specimens using serum, genetic and protein markers. 5th Conference of the Serbian Biochemical Society: Integrated research in life science. Beograd, 2015., *Proceedings* str. 101-103.

E. Zaključak

Na osnovu svega izloženog može se zaključiti da je u podnetoj disertaciji, pod naslovom **“Analiza proteinskih i genetičkih biomarkera u preoperativnoj i postoperativnoj diferencijalnoj dijagnostici tumora štitaste žlezde”** kandidatkinja Jelena Janković uspešno odgovorila na sve postavljene zadatke koji su se odnosili na ispitivanje dijagnostičkog i prognostičkog potencijala odabranih proteinskih i genetičkih biomarkera. Pokazano je da se protein kaveolin-1, *BRAF* V600E mutacija i ekspresija gena za EGFR mogu iskoristiti u dijagnostičke svrhe u postavljanju dijagnoze biopsijom tankom iglom, s obzirom da mogu da dijagnostifikuju malignitet sa nešto većom tačnošću od citologije. Predložena kombinacija određuje ove markere na različitim ćelijskim nivoima (DNK, RNK i proteinski), čime se postiže maksimalno iskorišćenje materijala sa biopsije. Pokazano je da oni imaju i prognostički potencijal, jer su pozitivno (kaveolin-1 i *BRAF* V600E), odnosno negativno (EGFR) povezani sa parametrima agresivnosti kancera. Utvrđeno je i postojanje veze između kaveolina-1, *BRAF* mutacije i EGFR, čime je ukazano na mogućnost postojanja međusobnog uticaja ovih markera, što bi se moglo odraziti na modulaciju MAPK signalizacije. Rezultati istraživanja, proistekli iz ove doktorske disertacije, objavljeni su u dva rada štampana u vrhunskim međunarodnim časopisima kategorije M21, u jednom radu štampanom u istaknutom međunarodnom časopisu kategorije M22, i u formi saopštenja na tri međunarodna i jednom skupu nacionalnog značaja. Na dva objavljena rada Jelena Janković je prvi autor. Rezultati proizašli iz ove disertacije imaju fundamentalni biohemijski značaj.

Na osnovu svega izloženog Komisija sa zadovoljstvom predlaže Nastavno-naučnom veću Hemijskog fakulteta Univerziteta u Beogradu, da podnetu doktorsku disertaciju Jelene Janković,

pod naslovom: “***Analiza proteinskih i genetičkih biomarkera u preoperativnoj i postoperativnoj diferencijalnoj dijagnostici tumora štitaste žlezde***” prihvati i odobri njenu odbranu za sticanje akademskog zvanja doktora biohemijskih nauka.

U Beogradu,

04.11.2016.

Komisija:

dr Marija Gavrović-Jankulović, redovni profesor
Hemijski fakultet
Univerzitet u Beogradu

dr Svetlana Paskaš, naučni saradnik
Institut za biološka istraživanja „Siniša Stanković“
Univerzitet u Beogradu

dr Svetislav Tatić, redovni profesor
Medicinski fakultet
Univerzitet u Beogradu

dr Milan Nikolić, docent
Hemijski fakultet
Univerzitet u Beogradu