

**УНИВЕРЗИТЕТ У КРАГУЈЕВЦУ
ФАКУЛТЕТ МЕДИЦИНСКИХ НАУКА
НАСТАВНО-НАУЧНОМ ВЕЋУ**

УНИВЕРЗИТЕТ У КРАГУЈЕВЦУ
ФАКУЛТЕТ МЕДИЦИНСКИХ НАУКА
У КРАГУЈЕВЦУ

ПРИМЉЕНО: 17. 01. 2022			
Орг. јед.	Број	Датум	Подносилац
05	462		

**ОДЛУКА ВЕЋА ЗА МЕДИЦИНСКЕ НАУКЕ УНИВЕРЗИТЕТА У КРАГУЈЕВЦУ
О ФОРМИРАЊУ КОМИСИЈЕ ЗА ОЦЕНУ ЗАВРШЕНЕ
ДОКТОРСКЕ ДИСЕРТАЦИЈЕ**

На седници Већа за медицинске науке Универзитета у Крагујевцу, одржаној дана 13.10.2021., одлуком бр. IV-03-773/18 формирана је Комисија за оцену и одбрану завршене докторске дисертације под називом „Значај епително-мезенхималне транзиције у колоректалној карциногенези“ кандидаткиње Браниславе Ранковић, у следећем саставу:

1. Проф. др Мирко Росић, редовни професор Факултета медицинских наука Универзитета у Крагујевцу за ужу научну област Физиологија
2. Доц. др Александар Цветковић, доцент факултета медицинских наука, Универзитета у Крагујевцу, за ужу научну област Хирургија
3. Проф. Др Миљан Крстић, ванредни професор Медицинског факултета Универзитета у Нишу за ужу научну област Патологија

Комисија је прегледала и проучила докторску дисертацију кандидаткиње Браниславе Ранковић и подноси Наставно-научном већу следећи

ИЗВЕШТАЈ

2.1. Значај и допринос докторске дисертације са становишта актуелног стања у одређеној научној области

Докторска дисертација кандидаткиње Браниславе Ранковић под називом „Значај епително-мезенхималне транзиције у колоректалној карциногенези“, урађена под менторством проф. др Нине Зидар, професора медицинског факултета, Универзитет у Љубљани, представља оригиналну научну студију која се бави испитивањем епително-мезенхималне транзиције у настанку и развоју колоректалног аденокарцинома.

Колоректални аденокарцином (CRC) представља више од 90% свих колоректалних малигних неоплазми и са више од милион нових дијагностикованих случајева годишње, CRC је водећи узрочник смрти повезаних са малигним неоплазмама. Обзиром да се прогноза и терапија разликују од случаја до случаја и да углавном зависе од стадијума, дијагностиковање CRC-а у раној фази је кључно.

Настанак колоректалног аденокарцинома је сложен и дуготрајан процес који протиче кроз више фаза, од нормалне слузокоже, преко аденома и последично карцинома. У току канцерогенезе долази до мутационе активације онкогена, заједно са мутационом инактивацијом гена за сузбијање тумора. Задњих година постоји тежња ка откривању нових биомаркера, који би нашли улогу и у раној фази карцинома. Као потенцијални механизам повезан са развојем и прогресијом CRC-а, се појавила епително-мезенхимална транзиција (EMT) и сматра се да су туморске ћелије које пролазе кроз EMT повезане са стварањем *tumour budding* процеса (туморско пупљење) и микрометастазама, те да ће CRC повезан са EMT-ом вероватно имати лошу прогнозу. Предходне студије су показале чланове породице miR-200 као и њихове циљне гене као регулаторе EMT у бројним инфламаторним и неопластичним процесима.

Смањена регулација породице miR-200 гена у корелацији је са губитком епитела и повећањем фенотипа сличног мезенхиму у пределу инвазивног дела, што доводи до повећане инвазивности туморских ћелија CRC-а, доприносећи тако миграцији кроз ванћелијски матрикс, колонизацији лимфног чвора и метастатском потенцијалу. У досадашњој литератури су податци о експресији miRNK у колоректалним аденомима и аденомима са псеудоинвазијом оскудни, додатне информације о дисрегулираној експресији miRNK могле би бити од помоћи за идентификацију улоге EMT-а у овој секвенци.

Хетерогеност тумора је феномен различит код сваког пацијента и уско је повезан са прогнозом и прогресијом рака, резистенцијом на терапију и рецидивима. Хетерогеност може бити интратуморска и интратуморска, које су од велике важности, јер тумори могу имати различите нивое диференцијације, као и различите морфолошке обрасце, присутне у истом тумору (нпр. централни део и инвазивни фронт). Паралелно са морфолошким разликама, добро је познато да различита подручја истог тумора могу имати различите обрасце експресије гена, која се такође назива и молекуларна хетерогеност, што би могло утицати на одговор на терапију, међутим, подаци о туморској хетерогености су релативно оскудни.

2.2. Оцена да је урађена докторска дисертација резултат оригиналног научног рада кандидата у одговарајућој научној области Прегледом референтне литературе прикупљене систематским претраживањем биомедицинских база података *Medline*, *ScienceDirect*, *EBSCO* и *KOBSON*, коришћењем следећих кључних речи: colorectal adenoma, colorectal carcinoma, adenoma with epithelial misplacement, metastases, intra-tumour heterogeneity, epithelial-mesenchymal transition, *miR-200* family, target genes, и међусобним укрштањем сваке од наведених одредница са одредницом denture, нису пронађене студије сличног дизајна и методолошког приступа. На основу наведених чињеница комисија констатује да докторска дисертација кандидаткиње Браниславе Ранковић под насловом „Значај епително-мезенхималне транзиције у колоректалној карциногенези“, представља резултат оригиналног научног истраживања.

2.3. Преглед остварених резултата рада кандидата у одређеној научној области

А) Лични подаци

Др Бранислава Ранковић рођена је 13. јуна 1980. године у Нишу, Република Србија. Основну и средњу школу је завршила у Нишу са одличним успехом. Медицински факултет у Нишу уписала је школске 1998/1999 године, а звање доктора медицине стекла је у септембру 2004 године. Након нострификације дипломе започиње специјализацију из области патологије на одељењу за патологију, универзитетског клиничког центра у Марибору. Звање специјалисте патологије је стекла 2014 године. Од јула 2014 године је запошљена на Институту за патологију, медицинског факултета у Љубљани.

2016 године је изабрана у звање асистента. Од 2016 године води одељење за патологију јетре и панкреаса.

Докторске академске студије уписала је на Факултету медицинских наука Универзитета у Крагујевцу, смер физиологија са експерименталном медицином. Положила је све испите предвиђене планом и програмом докторских студија.

Учествовала је на већем броју домаћих и међународних научних и стручних скупова. До сада је објавила као први аутор/коаутор 11 радова. Од тога је један рад категорије М21 проистекао из научно истраживачког рада докторске дисертације, што је квалификује да је испунила услове за оцену и одбрану ове докторске дисертације.

Говори и пише енглески, словеначки и италијански језик.

Б) Списак објављених радова

1. **Ranković B**, Zidar N, Žlajpah M, Boštjančič E. Epithelial-Mesenchymal Transition-Related MicroRNAs and Their Target Genes in Colorectal Cancerogenesis. *J Clin Med*. 2019;8(10):1603. **M21**
2. Hauptman N, Boštjančič E, Žlajpah M, **Ranković B**, Zidar N. Bioinformatics Analysis Reveals Most Prominent Gene Candidates to Distinguish Colorectal Adenoma from Adenocarcinoma. *Biomed Res Int*. 2018;2018:9416515. **M22**
3. **Ranković B**, Limbaeck-Stokin C, Đokić M, Stanisavljević D, Volavšek M. Simultaneous occurrence of pancreatic mixed acinar-ductal adenocarcinoma and primary follicular lymphoma of the duodenum, accompanied by increased number of IgG4 plasma cells in tumor-free parenchyma as concomitant IgG4-related disease or reaction to tumor? A case report. *Pol J Pathol*. 2017;68(1):86-91. **M23**

2.4. Оцена о испуњености обима и квалитета у односу на пријављену тему

Докторска дисертација Др Браниславе Ранковић се састоји из основног докторског рада који је написан на 70 страници, садржи 24 слика и 2 табеле, насловне странице на српском и енглеском језику, апстракт на српском и енглеском језику и садржаја. Дисертација је целости написана на српском и енглеском језику. Обухвата следећа основна поглавља: Увод, Хипотезе и циљеви истраживања, Материјал и методе, Резултати, Дискусија, Закључци и Летература. Поглавље литература садржи 108 цитираних библиографских јединица из иностраних научних и стручних публикација.

У уводном делу је кандидаткиња, цитирајући релевантну литературу, изнела досадашња сазнања о колоректалној канцерогенези са акцентом на молекуларним профилима настанка карцинома колона од нормалне слузнице преко аденома. Описани су хромозомска нестабилност (CIN), микросателитска нестабилност (MSI) и Фенотип метилације острва CpG (CIMP). Такође, анализирана је епителијско мезенхимална транзиција као потенциални фактор у настанку и прогресији карцинома колона. Сугерисано је то да микро RNK (miRNK), мале некодирајуће RNK, посебно породица miR-200, играју централну улогу у регулацији EMT процеса. Наведени су досадашњи прогностички и терапијски параметри. Такође указано је на тенденцију ка налажењу нових поузданијих биомаркера за рано откривање CRC-а који би били корисни такође и при дијагностично захтевнијим примерима као што су малигнизиран аденом и аденом са псеудоинвазијом. У уводу је кандидаткиња изнела досадашња сазнања о хетерогености тумора као и да би анализа истих била кључна за ефикасније лечење. Увод се завршава анализом досадашњих сазнања о микро RNK и њиховој улози у канцерогенези тачније, епителијско мезенхималној транзицији.

Основни циљ је био да се анализира експресија породице miR-200 и њихових циљних гена- CDKN1B, ONECUT2, PTPN13, RND3, SOX2, ZEB2 и TGFB2 као показатеља епително мезенхималне транзиције у колоректалним аденомима, малигним аденомима, аденомима са псеудоинвазијом, карциномима са и без метастаза у регионалним лимфним чворовима, као и карциномима са серозном инвазијом. Постављено је више хипотеза- да је епително мезенхимална транзиција важан механизам у развоју и прогресији CRC-а из аденома, у метастазирању и проширењу на

серозу, да се помоћу анализе епително мезенхимална транзиције може разликовати између аденома са епителном псеудоинвазијом и CRC-а и да се иста може користити као маркер напредног карцинома. Потпуна епително мезенхимална транзиција обично се опажа само у добро контролисаним експерименталним условима, стога се у овој студији, претпоставља да је током канцерогенезе CRC-а индукована парцијална (делимична) ЕМТ. Литературни подаци наводе улогу епително мезенхималне транзиције и експресије miRNK у карциному, мађутим подаци о анализи експресије miRNK и њихових циљних гена у колоректалним аденомима, као и аденомима са псеудоинвазијом су оскудни.

Све ове хипотезе су потврђене постављањем јасно дефинисаних циљева истраживања.

У поглављу Материјал и методе детаљно су описане све спроведене методе. ЕМТ је процењиван на основу експресије Е-кадхерина, породице miR-200 и експресије циљних гена и морфологије. За потребе истраживања су узорци подељени у више група. Аденоми су упоређени са карциномом и нормалном слузницом дебелог црева, малигни аденоми (аденоми са карциномом) упоређени су са аденомима и аденомима са псеудоинвазијом. Поређени су карциноми са метастазама у регионалним лимфним чворовима са онима без метастаза у лимфним чворовима, такође карциноми са серозном инвазијом упоређивани су са карциномима без серозне инвазије (CRC N0 и CRC N+). У студији је анализирана и хетерогеност унутар тумора, упоређујући инвазивни део тумора и центар тумора у свим случајевима CRC-а.

Описани су начин изолација RNK из узорака ткива, анализа експресије чланова породице miR-200 и експресије циљних гена. Примењене су одговарајуће статистичке методе за процену разлика експресија. Резултати су представљени као релативна експресија гена.

Резултати истраживања су подељени у више поглавља која се односе на испитиване групе. Резултати су описани текстуално и систематично приказани на графиконима и табелама. Поређењем експресије породице miR-200 и њихових циљних гена у аденому са псеудоинвазијом и раним карциномом показано је смањење регулације породице miR-200 и RPTN13 гена и повећање регулације CDKN13 гена у раном карциному у поређењу са поменутиим регулацијама у аденому и аденому са псеудоинвазијом. Поређење експресије породице miR-200 и њихових циљних гена у карциному са серозном инвазијом и њихове експресије у карциному без серозне инвазије, такође је у складу са укључивањем ЕМТ-а у прогресију CRC-а. Све испитиване miRNK биле снижене у случајевима са смањеном експресијом Е-кадхерина и углавном су биле снижене на инвазивном фронту у поређењу са њиховом експресијом у централним деловима тумора. Сви испитивани примери су имали очувану морфологију епителних ћелија. Добијени резултати показују да ЕМТ игра важну улогу у CRC-у и у његовом развоју и напредовању, али само као делимична ЕМТ.

Поглавље дискусија је написано систематично, стилски уобличено, наводећи преглед литературе са досадашњим научним истраживањима. Добијени резултати истраживања из ове докторске дисертације су јасно анализирани и поређени са релевантним литературним подацима истраживања других аутора из ове области.

На основу претходно изнетих чињеница Комисија закључује да завршена докторска дисертација кандидаткиње Браниславе Ранковић под називом „Значај епително-мезенхималне транзиције у колоректалној карциногенези“, по обиму и квалитету израде у потпуности одговара пријављеној теми докторске дисертације.

2.5. Научни резултати докторске дисертације

Најзначајнији резултати истраживања ове докторске дисертације могу бити формулисани тврдњом да је парцијална епително мезенхимална транзиција најрелевантнији ЕМТ облик у настанку и прогресу карцинома колона.

Такође, резултати сугеришу да породица miR-200 и њихови циљни који су коришћени као маркери ЕМТ доприносе прогресији аденома у CRC, инвазивним својствима и развоју метастаза.

Анализа изражавања испитиваних miR-200 и њихових циљних гена је показала више образаца:

- снижена регулација породице miR-200 и супротна експресија циљних гени у CRC у поређењу са аденомом.
- снижена регулација породице miR-200 на инвазивном фронту у поређењу са централним делом тумора
- корелација експресије miR200b, CDKN1B, ONECUT2 и ZEB2 са нодалним метастазама.
- изражавање miR-200 и циљних гена је у кореалцији са резултатом имунохистохемијског бојења на E-кадхерин.
- снижена регулација породице miR-200 и RTPN13, као и повећана регулација CDKN1B у раном карциному у поређењу са аденомима и аденомима са псеудоинвазијом.

2.6. Примењивост и корисност резултата у теорији и пракси

Са обзиром да се експресија miRNK и њихових циљних гена значајно разликује између аденома и аденома са псеудоинвазијом, њихова би се анализа могла користити код дијагностично проблематичних примера, као што су диференциација између бенигнух лезија и аденома са правом инвазијом- рани карцином.

Разлика изражавања miRNK и њихових циљних гена у CRC са метастазама у поређењу са онима без метастаза, као и у CRC са серозном инвазијом у поређењу са CRC без инвазије серозе, као и анализа молекуларне хетерогености тумора би се могли користити као дијагностички и прогностички маркер.

2.7. Начин презентирања резултата научној јавности

Резултати ове студије су једним делом публиковани у часопису индексираном на SCI листи (категирија M21):

1. **Ranković B, Zidar N, Žlajpah M, Boštjančič E.** Epithelial-Mesenchymal Transition-Related MicroRNAs and Their Target Genes in Colorectal Cancerogenesis. *J Clin Med.* 2019;8(10):1603. **M21**

ЗАКЉУЧАК

Комисија за оцену и одбрану завршене докторске дисертације кандидаткиње Браниславе Ранковић под називом „Значај епително-мезенхималне транзиције у колоректалној карциногенези“, сматра да је истраживање у оквиру ове тезе засновано на актуелним сазнањима и да је адекватно реализовано према прецизно постављеној методологији.

Комисија сматра да докторска дисертација урађена под менторством проф. др Нине Зидар, представља оригинални научни допринос од научног и практичног значаја у дијагностиковању CRC -а у раној фази, диференцијацији тежих примера као што су аденоми са псеудоинвазијом, анализи хетерогености тумора, који би водили ка адекватнијем и прецизнијем планирању терапије.

Комисија са задовољством предлаже Наставно-научном већу Факултета Медицинских наука Универзитета у Крагујевцу да докторска дисертација под називом: „Значај епително-мезенхималне транзиције у колоректалној карциногенези“ кандидаткиње Браниславе Ранковић, буде позитивно оцељена и одобрена за јавну одбрану.

ЧЛАНОВИ КОМИСИЈЕ:

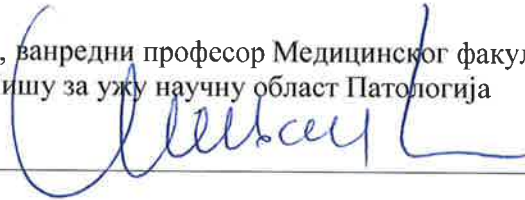
Проф. др Мирко Росић, редовни професор Факултета медицинских наука Универзитета у Крагујевцу за ужу научну област Физиологија, председник



Доц. др Александар Цветковић, доцент факултета медицинских наука, Универзитета у Крагујевцу, за ужу научну област Хирургија



Проф. Др Миљан Крстић, ванредни професор Медицинског факултета Универзитета у Нишу за ужу научну област Патологија



У Крагујевцу, децембар 2021.