

NASTAVNO-NAUČNOM VEĆU HEMIJSKOG FAKULTETA UNIVERZITETA U BEOGRADU

Na redovnoj sednici Nastavno-naučnog veća Hemijskog fakulteta Univerziteta u Beogradu, održanoj 13. februara 2014. godine, određeni smo za članove Komisije za pregled, ocenu i odbranu doktorske disertacije diplomiranog hemičara-biohemičara Dragane Lagundžin, istraživača saradnika Instituta za primenu nuklearne energije-INEP u Zemunu, pod naslovom:

“Promena strukture i reaktivnosti vezujućeg proteina 1 za faktore rasta slične insulinu kao posledica metabolizma glukoze”

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

IZVEŠTAJ

A. Prikaz sadržaja disertacije

Doktorska disertacija Dragane Lagundžin, napisana je na 108 strana A4 formata (prored 1,5) i sadrži 36 slika i 8 tabela. Rad obuhvata sledeća poglavlja: Uvod (2 strane), Pregled literature (33 strane), Materijal i metode (16 strana), Rezultati i diskusija (41 strana), Zaključci (2 strane), Literatura (14 strana, 271 citat). Pored navedenog, disertacija sadrži Izvod na srpskom i engleskom jeziku (po 2 strane), Listu skraćenica, Sadržaj i Biografiju kandidata (1 strana).

U **Uvodu** je istaknut značaj ispitivanja povezanosti post-translacionih modifikacija IGFBP-1 i metabolizma glukoze, kao i ispitivanja interakcija IGFBP-1 sa drugim proteinima iz okruženja, koje bi mogle doprineti efektima uočenim na nivou ose IGFBP-1/IGF/insulin kod osoba sa nepravilnim metabolizmom glukoze ili metabolizmom pod opterećenjem.

Pregled literature obuhvata četiti predmetne celine. Prva celina sadrži opšte informacije vezane za sistem faktora rasta sličnih insulinu (IGF sistem), strukturne karakteristike njegovih činilaca: IGF liganada (IGF-I i IGF-II), receptora (IGF-1R i IGF-2R), vezujućih proteina (IGFBP-1 do IGFBP-6) i IGFBP proteaza, kao i njihovu fiziološku ulogu. Takođe, ukratko je opisana sinteza i regulacija IGF i IGFBP molekula, a više detalja je dato za IGFBP-1. U drugoj celini je opisana povezanost IGF sistema i metabolizma glukoze. Upoređena je struktura molekula insulina sa IGF molekulima, njihovo unakrsno dejstvo i obrazložen značaj ovih procesa. U trećoj celini su navedena saznanja o post-translacionim modifikacijama IGFBP-1 i njihov biohemijski značaj. Opisani su procesi fosforilovanja,

proteolize, polimerizacije, kao i stvaranja kompleksa sa drugim molekulima. Četvrta celina se odnosi na učešće IGFBP-1 u pojedinim (pato)fiziološkim procesima. Ukratko su razmotrene promene strukture i koncentracije IGFBP-1 u stanjima izmenjenog metabolizma glukoze, koja su delom predmet izučavanja ove doktorske teze, kao što su dijabetes tip 2, hipoglikemija, intenzivna fizička aktivnost i fetalni rast. Takođe, opisan je test kojim se inicijalno dijagnostifikuju ovakva stanja (OGTT test), razmatrane su promene koje se dešavaju tokom izvođenja testa na nivou insulin/IGF-I/IGFBP-1 ose i analiziran njihov značaj.

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

U delu **Rezultati i diskusija**, Kandidatkinja je prikazala i komentarisala dobijene rezultate u šest celina. Prva celina ovog poglavlja se odnosi na optimizaciju postupka izolovanja IGFBP-1 iz amnionske tečnosti i citosola placente. Izolovanje je rađeno metodom kuplovanih hromatografija u tri etape: jonoizmenjivačka anjonska hromatografija, hidrofobna hromatografija i gel-filtracija. Za svaki korak prikazani su hromatogrami, određena je koncentracija izolovanog IGFBP-1 i izračunat prinos. Drugi deo se odnosi na ispitivanje specifičnosti različitih poliklonskih anti-IGFBP-1 antitela korišćenih u ovoj tezi. Analizirana su komercijalno dostupna antitela različitih proizvođača. Detaljno je ispitana njihova unakrsna reaktivnost sa drugim IGFBP molekulima i procenjen kvalitet za dalji rad, u smislu prepoznavanja različitih molekulskih formi IGFBP-1. Treći deo se odnosi na analizu i razdvajanje formi IGFBP-1 metodama afinitetne hromatografije: metal-afinitetna, imunoafinitetna i lektinska afinitetna hromatografija. Ukratko je obrazložena specifičnost pomenutih metoda i, nakon hromatografskog razdvajanja i detekcije IGFBP-1 na imunoblotu, komentarisana je efikasnost svake metode. Na osnovu dobijenih rezultata, predložena je kombinacija hromatografskih metoda, u cilju najoptimalnijeg razdvajanja različitih oblika IGFBP-1 (monomera, multimera, kompleksa). Četvrta celina se odnosi na ispitivanje povezanosti metabolizma glukoze i insulina sa promenama u IGFBP-1. U serumima pacijenata sa dijabetesom tip 2 ili hipoglikemijom analizirane su promene u molekulskim profilima IGFBP-1 metodama afinitetne hromatografije. Razlike u odnosima i udelu monomera, multimera i kompleksa IGFBP-1 sa alfa2-makroglobulinom ($\alpha 2M$) prikazane su na imunoblotu. Za detaljnije ispitivanje formi IGFBP-1 primenjena je masena spektrometrija SELDI-TOF, a za specifične hromatografske frakcije upoređeni su maseni spektri sa karakterističnim maksimumima koji potiču od fragmenata IGFBP-1. Peta celina se odnosi na ispitivanje uticaja intenzivne fizičke aktivnosti na promene IGFBP-1. U uzorcima seruma su metodama afinitetne hromatografije ispitane razlike u prisutnosti formi IGFBP-1, a rezultati su prikazani na imunoblotovima. Takođe, tabelarno su dati rezultati denzitometrijske analize imunorekativnih oblika IGFBP-1. U nastavku rada su prikazani rezultati želatinske zimografije, kojom je detektovana povećana aktivnost MMP-9 kod sportista. Za detaljniju analizu fizičko-hemijskih karakteristika fragmenata IGFBP-1 upotrebljeni su čipovi sa različitim reaktivnim površinama, a rezultati su prikazani kao uporedni SELDI-TOF maseni spektri. Šesti deo teze se odnosi na ispitivanje moguće povezanosti pušenja, kao uzročnika

stvaranja slobodnih radikala, sa promenama IGFBP-1. U uzorcima seruma su metodama afinitetne hromatografije ispitane razlike u prisutnosti pojedinih formi IGFBP-1, a deo rezultata je prikazan na imunoblotovima.

U **Zaključku** Kandidatkinja je sumirala dobijene rezultate i diskutovala ih.

U poglavlju **Literatura** (271 citat) navedeni su radovi iz oblasti istraživanja koji iscrpno pokrivaju sve delove disertacije.

B. Kratak prikaz rezultata

U ovoj tezi su ispitane post-translacione modifikacije i interakcije IGFBP-1, kao i moguća povezanost ovih pojava sa određenim (pato)fiziološkim stanjima kod čoveka. Ispitana je distribucija IGFBP-1 između različitih molekulskih formi u cirkulaciji zdravih osoba i promene koje nastaju kod stanja izmenjenog metabolizma glukoze. Analizirane su karakteristike IGFBP-1 iz seruma odgovarajućih grupa ljudi: zdravih osoba (nepušača i pušača), pacijenata sa dijabetesom tip 2 ili hipoglikemijom i profesionalnih sportista. Analizirane su fosfoforme, polimeri i fragmenti IGFBP-1, kao i kompleksi IGFBP-1/ α 2M.

U prvom koraku je razrađen postupak izolovanja IGFBP-1 iz amnijske tečnosti i citosola placentе. IGFBP-1 spada u proteine čija je koncentracija u fiziološkim tečnostima mala i najveća je u amnijskoj tečnosti (μ M). U postupku izolovanja je dobijena količina IGFBP-1 koja je bila dovoljna samo za utvrđivanje specifičnosti antitela, paralelno sa rhIGFBP-1. Da bi se izvršio izbor anti-IGFBP-1 antitela koja najviše odgovaraju cilju ovog rada, testirana je specifičnost četiri komercijalna preparata: DSL, GroPep, Santa Cruz i AbD Serotec. Rezultati su pokazali da su antitela proizvođača Santa Cruz i AbD Serotec vrlo specifična za IGFBP-1 protein, da prepoznaju sve njegove oblike i da se mogu pouzdano koristiti u daljim eksperimentima.

Za razdvajanje različitih formi IGFBP-1 iz seruma i njihovo dalje ispitivanje upotrebljene su metode afinitetne hromatografije. Primenom metal-afinitetne hromatografije sa IDA agarozom kao matriksom, nisu se mogle razdvojiti različite fosfoforme IGFBP-1, pošto su se sve vezivale za matriks. Sa druge strane, imunoafinitetnom hromatografijom sa imobilizovanim anti- α 2M antitelima postignuto je selektivno razdvajanje formi IGFBP-1. Kompleksi IGFBP-1/ α 2M su se vezivali za matriks, dok je monomer IGFBP-1 pretežno ostao nevezan. Pokazalo se da komplekse sa α 2M formiraju i monomer i multimeri IGFBP-1. Redukcijom veza u kompleksima, kao dominantna vrsta oslobodio se dimer IGFBP-1. Primenom lektinske hromatografije potvrđeno je da su serumske IGFBP-1 forme masa 60-100 kDa multimeri IGFBP-1 (nisu interagovali sa lektinima). Za lektine su se vezali samo kompleksi IGFBP-1/ α 2M, jer je α 2M glikoprotein. Izuzetak je uočen kod Con A hromatografije, u kojoj je i sam IGFBP-1 reagovao sa lektinom. Interakcija je zavisila od

prisustva jona Ca^{2+} , Mg^{2+} i Mn^{2+} , što je navelo na zaključak da IGFBP-1 ispoljava mimetički efekat kada je Con A u pitanju. Dimerni i multimerni oblici IGFBP-1, koji su prema literaturi do sada nađeni samo u tkivima, kroz ovu tezu su detektovani i analizirani i u cirkulaciji. Deo ovih multimera se pokazao stabilnim u redukujućoj sredini, a deo ne. Iz tih rezultata se moglo zaključiti da multimeri u cirkulaciji potiču iz dva procesa: oksidacije i transglutaminacije.

Dalje je u radu ispitana povezanost IGFBP-1 sa metabolizmom glukoze. Kod osoba sa poremećajem u metabolizmu glukoze, kao što su diabetes mellitus i hipoglikemija, menjaju se koncentracije i strukturne karakteristike IGFBP-1. Najintenzivnije post-translacione promene IGFBP-1 se javljaju kod pacijenata sa dijabetesom tip 2, a najkarakterističnije su one na nivou multimera masa oko 100 kDa. Prisutnost većeg broja različitih oblika IGFBP-1 kod ovih pacijenata ukazuje na potencijalno veće učešće IGF sistema u regulaciji koncentracije glukoze kod dijabetičara. Takođe, postoje izvesne razlike u odnosu fosfoformi IGFBP-1 kod zdravih osoba i ispitivanih grupa, kao i u načinu njihove fragmentacije. Pokazalo se da dijabetes i hipoglikemija ne utiču značajno na udeo IGFBP-1 u kompleksima sa $\alpha 2\text{M}$.

Profesionalno bavljenje sportom, takođe, dovodi do promene u koncentraciji i strukturi IGFBP-1. Koncentracija ukupnog IGFBP-1 raste kod sportista ali, usled povećane proteolize, ne menja se značajno udeo monomera, već IGFBP-1 fragmenata. Glavni fragment IGFBP-1 u serumu sportista je mase 9 kDa i, verovatno, nastaje kao posledica povećane aktivnosti matriksne metaloproteaze 9 (MMP-9). U okviru ove teze je prvi put ukazano na MMP-9 kao IGFBP-1 proteazu kod sportista. Primenom masene spektrometrije detektovana je izmenjena reaktivnosti IGFBP-1 kod sportista na čipovima čije su površine jonoizmenjivači, ukazujući na promenu u fizičko-hemijskim karakteristikama IGFBP-1, pre svega u naelektrisanju.

Na kraju, ispitan je uticaj pušenja, kao uzroka nastanka slobodnih radikala, na stepen oksidacije IGFBP-1 i stvaranje multimernih oblika. Prema dobijenim rezultatima, pušenje nije bilo od uticaja na oligomerizaciju (oksidaciju) IGFBP-1 u cirkulaciji.

C. Uporedna analiza rezultata kandidata sa rezultatima iz literature

Poremećaj u metabolizmu glukoze je uzročnik oboljenja koje se smatra jednim od najčešćih u savremenom svetu – diabetes mellitus-a. Broj obolelih od dijabetesa progresivno raste svake godine, a sve je veći broj radova koji povezuju dijabetes, insulinsku rezistenciju i razvoj tumora. Pored dokazane uloge IGF peptide u procesu kontrole koncentracije glukoze u krvi, i pojedini IGFBP molekuli imaju važnost. Oni regulišu vezivanje/otpuštanje IGF liganada, ali ispoljavaju i tzv. IGF nezavisna dejstva. Koncentracija IGFBP-1 se direktno menja sa promenom koncentracije insulina i smatra se važnim činiocem u homeostazi

glukoze. Mehanizam ove sprege još uvek nije dokazan, ali se pretpostavlja da insulin inhibira sintezu IGFBP-1 u jetri.

Prilikom izolovanja IGFBP-1 iz amnijske tečnosti korišćen je postupak već opisan u literaturi. Tokom izrade ove teze opisani postupak je prvo reprodukovano, a zatim je kroz male izmene pokušana optimizacija izolovanja u cilju dobijanja što veće količine IGFBP-1. Izolovanje je rađeno iz amnijske tečnosti i citosola placente, fiziološkim uzorcima koji sadrže najviše IGFBP-1. Dobijeni prinosi su bili znatno manji od literaturno objavljenih. Izolovani i komercijalni rhIGFBP-1 su paralelno korišćeni za analizu specifičnosti i osetljivosti komercijalnih anti-IGFBP-1 antitela.

IGFBP-1 ima nekoliko Ser ostataka koji podležu fosforilovanju. Do sada je utvrđeno postojanje nefosforilovane i pet fosforilovanih formi IGFBP-1. One vezuju IGF ligande sa različitim afinitetom, a afinitet raste sa stepenom fosforilovanja. Nefosforilovana i manje fosforilovane forme IGFBP-1 imaju manji afinitet za IGF ligande nego receptori, dok fosfoforme sa velikim brojem fosfatnih grupa čine IGFBP-1 inhibitorom dejstva IGF. Dakle, sa porastom stepena fosforilovanja IGFBP-1 postiže se veće vezivanje IGF za njega i inhibicija dejstva. Dalje je poznato da je IGFBP-1 supstrat za tkivnu transglutaminazu i da se stvaraju dimeri i veći oligomeri. Afinitet oligomera za IGF je neuporedivo manji nego monomera, a udeo ukupnog IGFBP-1 u oligomerima može biti značajan. Sa porastom stepena oligomerizacije IGFBP-1, smanjuje se udeo IGF liganada vezan za ovaj protein, što za posledicu može imati više slobodnog IGF i/ili redistribuciju ka ostalim IGFBP, odgovornim za druge uloge u organizmu. Nije poznat mehanizam koji kontroliše oligomerizaciju IGFBP-1 i fiziološke posledice njihovog stvaranja. Oligomeri IGFBP-1 su do sada detektovani i ispitani samo u čvrstom tkivu. U eksperimentima izvedenim u okviru ove teze, detektovano je prisustvo više vrsta multimera IGFBP-1 u serumu ljudi. Konstatovano je da se relativni odnos različitih multimera menja sa promenom u regulaciji metabolizma glukoze. Najspecifičnije promene su uočene kod obolelih od dijabetesa tip 2, upućujući na pretpostavku da je karakteristična oligomerizacija IGFBP-1 uključena ili u etiologiju dijabetesa ili se javlja kao njegova posledica.

Fragmenti IGFBP-1 (kao i ostalih IGFBP) uglavnom ne vezuju IGF, te je proteoliza jedan od načina da se kontroliše njihova koncentracija i vezivanje IGF. Što je veći stepen fosforilovanja IGFBP-1, veća je proteolitička rezistencija. Ipak, ima radova u kojima je navedeno da neki fragmenti mogu vezati ligande malim afinitetom. Takođe, u jednom radu su autori naveli da IGF-I vezan za fragmente IGFBP-1 može stimulisati unutarćelijski transport glukoze u mišiću. Ima i naznaka da neki fragmenti mogu interagovati sa proteinskim strukturama na površini ćelija nezavisno od prisustva liganda, ispoljavajući IGF nezavisno dejstvo. Sve skupa, stavovi po pitanju uloge IGF peptida i IGFBP-1 u metabolizmu glukoze su neusaglašeni, a ima i kontradiktornosti. Najviše je štampanih radova u kojima je opisana i ispitana proteoliza IGFBP-1 u amnijskoj tečnosti. Ovaj teza se bavi analizom fragmentata IGFBP-1 u serumu, kao i utvrđivanjem korelacije između stepena fragmentacije i aktivnosti MMP-9.

U različitim kataboličkim stanjima se može povećati koncentracija IGFBP-1 nezavisno od koncentracije insulina. Još uvek je nerazjašnjeno da li je taj rast posledica gubitka povratne sprege sa insulinom ili dejstva nekog drugog, insulin nezavisnog mehanizma. Prema literaturnim podacima, velika koncentracija IGFBP-1 se smatra faktorom rizika za preživljavanje. U malom broju studija je pokazano da kod kritično obolelih pacijenata uspostavljanje insulinske regulacije nakon rezistencije nije nužno praćeno fiziološkom promenom koncentracije IGFBP-1. Dakle, u kataboličkim stanjima se može održati velika koncentracija IGFBP-1 mimo uticaja insulina i ishrane, što navodi na postojanje dodatnog mehanizma regulacije IGFBP-1. Inflammatory citokini su predloženi kao kandidati koji u takvim stanjima odlučuju o IGFBP-1. Prema svemu navedenom, očigledno je da su saznanja o sintezi, degradaciji i ulozi IGFBP-1 još uvek ograničena i da je potrebno dalje istraživati na tom polju.

IGFBP-1 stvara komplekse sa $\alpha 2M$ i pretpostavka je da štiti IGFBP-1 od proteolize. O drugim ulogama kompleksa se ne zna i vrlo je malo štampanih radova koji se njime bave, kao i njegovom mogućom ulogom u različitim metaboličkim stanjima. Pošto je $\alpha 2M$ i transportni protein za razne ligande, a u tkivima se vezuje za svoj receptor, moguće je da se IGFBP-1 u kompleksu sa $\alpha 2M$ transportuje do ciljanog tkiva i lokalizuje na određenom delu ćelije. Za ovakve pretpostavke nema ni jednog dokaza. U ovoj tezi je ispitana relativna količina IGFBP-1 u kompleksu sa $\alpha 2M$ u cirkulaciji, kao i stabilnost kompleksa u stanjima izmenjenog metabolizma glukoze (dijabetes, hipoglikemija, intenzivna fizička aktivnost).

Kada se govori o metabolizmu glukoze, posebni pravac čini metabolizam sportista. Sportisti su, naime, sa posebnim zahtevima u pogledu obezbeđenja energije. Profesionalno bavljenje sportom nameće ekstremne metaboličke uslove i opseg promena je daleko veći nego kod osoba koje nisu aktivne. Štampan je veći broj radova na temu IGF sistema kod sportista, ali su rezultati raznoliki. Određeni broj studija je pokazao da je IGF-I kod sportista veći nego kod neaktivnih individua, prema drugima je manji, dok ima studija prema kojima se koncentracija IGF-I ne menja. Ista je situacija i u pogledu koncentracije IGFBP-1. Očigledno je da neki, još uvek neidentifikovani uticaji, doprinose dobijanju ovako kontradiktornih podataka. Rezultati do kojih se došlo u okviru ove teze pokazuju da koncentracija ukupnog IGFBP-1 u serumu raste kod sportista ali da se, usled povećane proteolize, ne menja značajno udeo monomera, već IGFBP-1 fragmenata. Glavni fragment IGFBP-1 u serumu sportista je mase 9 kDa i, verovatno, nastaje kao posledica povećane aktivnosti MMP-9. U okviru ove teze je prvi put ukazano na MMP-9 kao IGFBP-1 proteazu u kod sportista. Literaturno se ovaj fragment pominje u radu gde je ispitivana proteoliza IGFBP-1 u amnionskoj tečnosti. Dobijeni rezultati teze imaju posebni značaj u razumevanju razloga za dobijanje kontradiktornih rezultata pri određivanju koncentracije IGFBP-1 imunohemijskim testovima. Ukupna koncentracija IGFBP-1 zaista jeste povećana kod sportista, ali je povećan i stepen njegove proteolize. Nastali fragmenti mogu biti imunoreaktivni u testovima, što zavisi od izbora antitela proizvođača testova. To znači da imunohemijski testovi, koji makar u maloj

meri prepoznaju fragmente, mogu dati značajno različite rezultate od onih testova koji prepoznaju samo monomer IGFBP-1. Kandidatkinja je jasno ukazala na mogućnosti i ograničenja komercijalnih testova za merenje koncentracije IGFBP-1 i ponudila obrazloženje za neusaglašene rezultate koji se objavljuju u literaturi.

D. Objavljeni radovi i saopštenja koji čine deo disertacije

Radovi u istaknutim međunarodnim časopisima M₂₂

1. Dragana Lagundžin, Vesna Vučić, Marija Glibetić, Olgica Nedić. Alteration of IGFBP-1 in soccer players due to intensive training. International Journal of Sport Nutrition and Exercise Metabolism, 23 (2013) 449-457 (kategorija Sportske nauke 28/84 u 2012.)

Radovi u međunarodnim časopisima M₂₃

1. Dragana Lagundžin, Romana Masnikosa, Goran Miljuš, Dragana Robajac, Olgica Nedić. Investigation of different molecular forms of IGFBP-1 using immobilised metal-, immuno- and lectin-affinity chromatography. Journal of the Serbian Chemical Society, 75 (2010) 1481-1489.

2. Olgica Nedić, Romana Masnikosa, Dragana Lagundžin. Association between the pattern of IGFBP-1 alteration and the glucose/insulin metabolic control. Experimental and Clinical Endocrinology and Diabetes, 119 (2011) 306-313.

3. Romana Masnikosa, Ivona Baričević, Dragana Lagundžin, Olgica Nedić. Immunodetection of insulin-like growth factor binding proteins (IGFBPs) in the sera of different animal species. Turkish Journal of Veterinary and Animal Sciences, 35 (2011) 443-452.

Radovi saopšteni na skupovima međunarodnog značaja štampani u izvodu M₃₄

1. Dragana Lagundžin, Dragana Robajac, Goran Miljuš, Romana Masnikosa, Olgica Nedić. Separation of monomer, multimer and complex forms of IGFBP-1 from human serum using lectin-affinity chromatography. 35th FEBS Congress Molecules of Life, Geteburg, Švedska, jun 26-juli 1, 2010, FEBS Journal, 277 Suppl. 1 (2010) 244.

2. Dragana Lagundžin, Olgica Nedić. Characterisation of IGFBP-1 molecular forms in healthy persons and patients with diabetes mellitus type 2 or hypoglycemia. BES 2011 Society for Endocrinology, Birmingem, Velika Britanija, april 11-14, 2011, Endocrine Abstracts 15 (2011) P135.

Rad saopšten na skupu nacionalnog značaja štampan u izvodu M₆₄

1. Dragana Lagundžin, Romana Masnikosa, Olgica Nedić. Analiza izoformi, multimera i kompleksa IGFBP-1 u cirkulaciji ljudi. 48. Savetovanje Srpskog hemijskog društva, Novi Sad, Srbija, april 17-18, 2010, Zbornik radova str. 100.

E. Zaključak

Na osnovu svega izloženog, može se zaključiti da je u podnetoj disertaciji pod naslovom "Promena strukture i reaktivnosti vezujućeg proteina 1 za faktore rasta slične insulinu kao posledica metabolizma glukoze", kandidat Dragana Lagundžin uspešno odgovorila na sve postavljene zadatke koji se odnose na ispitivanje povezanosti promena u strukturi i reaktivnosti IGFBP-1 sa metabolizmom glukoze. Rezultati istraživanja, proistekli iz ove doktorske disertacije, objavljeni su u jednom radu štampanom u vrhunskom međunarodnom časopisu kategorije M₂₂, tri rada štampanim u međunarodnim časopisima kategorije M₂₃ i saopšteni su na dva skupa međunarodnog značaja, kao i na jednom nacionalnog značaja. Rezultati ove teze imaju fundamentalni biohemijski značaj.

Na osnovu svega izloženog Komisija sa zadovoljstvom predlaže Nastavno-naučnom veću Hemijskog fakulteta Univerziteta u Beogradu, da podnetu doktorsku disertaciju Dragane Lagundžin pod naslovom "**Promena strukture i reaktivnosti vezujućeg proteina 1 za faktore rasta slične insulinu kao posledica metabolizma glukoze**" prihvati i odobri njenu odbranu za sticanje akademskog zvanja doktora biohemijskih nauka.

U Beogradu,
25.07.2014.

Komisija:

dr Ljuba Mandić, redovni profesor
Hemijskog fakulteta Univerziteta u Beogradu

dr Olgica Nedić, naučni savetnik Instituta za primenu
nuklearne energije (INEP) Univerziteta u Beogradu

dr Marija Gavrović-Jankulović, redovni profesor
Hemijskog fakulteta Univerziteta u Beogradu