

Биолошки факултет
Број захтева: 15/761-1
Датум: 15.12.2014.

УНИВЕРЗИТЕТ У БЕОГРАДУ
ВЕЋУ НАУЧНИХ ОБЛАСТИ ПРИРОДНИХ НАУКА

ЗАХТЕВ

за давање сагласности на реферат о урађеној докторској дисертацији за кандидата на докторским студијама

Молимо да, сходно члану 47. ст. 5. тач. 4. Статута Универзитета у Београду ("Гласник Универзитета", број 162/11-пречишћени текст, 167/12, 172/13 и 178/14), дате сагласност на реферат о урађеној докторској дисертацији:

КАНДИДАТ: **Зорица З. Милошевић**

студент докторских студија на студијском програму Биологија, Генетика

пријавио је докторску дисертацију под називом:

„Улога PI3K/AKT/mTOR и RAS/MAPK/ERK сигналних путева у резистенцији карцинома штитасте жлезде на хемиотерапију“

из научне области: Биолошке науке.

Универзитет је дана 24.04.2014. године. својим актом под бр. 02 Број: 61206-1924/2-14 дао сагласност на предлог теме докторске дисертације која је гласила:

„Улога mTOR и MAPK сигналних путева у резистенцији карцинома штитасте жлезде на хемиотерапију“

Комисија за оцену и одбрану докторске дисертације образована је на седници одржаној 12.09.2014. год, одлуком Факултета под бр. 15/581-12.09.2014. год. у саставу:

	Име и презиме члана комисије	звање	научна област	Установа у којој је запослен
1.	др Марина Стаменковић-Радак	редовни професор	генетика и еволуција	Универзитет у Београду- Биолошки факултет
2.	др Јасна Банковић	виши научни сарадник	молекуларна онкологија	Институт за биолошка истраживања „Синича Станковић“
3.	др Никола Танић	научни саветник	молекуларна биологија малигне ћелије	Институт за биолошка истраживања „Синича Станковић“

Напомена: уколико је члан Комисије у пензији навести датум пензионисања.

Наставно-научно веће факултета прихватило је реферат Комисије за оцену и одбрану докторске дисертације на седници одржаној 15. децембра 2014. године.

Декан Биолошког факултета

Проф. др Јелена Кнежевић-Вукчевић

Прилог: 1. Реферат комисије са предлогом.

2. Акт Наставно-научног већа факултета о усвајању реферата

3. Примедбе дате у току стављања реферата на увид у јавности, уколико је таквих примедби било.

4. Електронска верзија.



УНИВЕРЗИТЕТ У БЕОГРАДУ
БИОЛОШКИ ФАКУЛТЕТ

Студентски трг 16
11000 БЕОГРАД
Република СРБИЈА
Тел: +381 11 2186 635
Факс: +381 11 2638 500
Е-пошта: dekanat@bio.bg.ac.rs

15/761-15.12.2014.

На основу члана 128. Закона о високом образовању и члана 59. став 1. тачка 1. Статута Универзитета у Београду-Биолошког факултета, Наставно-научно веће Факултета, на III редовној седници одржаној 15.12.2014. године, донело је

О Д Л У К У

Прихвата се Извештај Комисије за преглед, оцену и одбрану докторске дисертације кандидата:

Зорице З. Милошевић, под називом:

„Улога mTOR и MAPK сигналних путева у резистенцији карцинома штитасте жлезде на хемиотерапију“

Универзитет је дана 24.04.2014. године. својим актом под бр. 02 Број: 61206-1924/2-13 дао сагласност на предлог теме докторске дисертације кандидата.

Радови и конгресна саопштења из докторске дисертације:

Б1. Радови у часописима међународног значаја:

Milosevic Z, Pesic M, Stankovic T, Dinic J, Milovanovic Z, Stojsic J, Dzodic R, Tanic N, Bankovic J. Targeting RAS-MAPK-ERK and PI3K-AKT-mTOR signal transduction pathways to chemosensitize anaplastic thyroid carcinoma. Transl Res 2014; [164\(5\)](#):411–423. (M21)

Milosevic Z, Tanic N, Bankovic J, Stankovic T, Buta M, Lavrnica D, Milovanovic Z, Pupic G, Stojkovic S, Milinkovic V, Ito Y, Dzodic R. Genetic alterations in quadruple malignancies of a patient with multiple sclerosis: their role in malignancy development and response to therapy. Int J Clin Exp Pathol 2014; 7(4):1826-1833 (M23)

Декан Биолошког факултета

Проф. др Јелена Кнежевић-Вукчевић

Доставити:

- Универзитету у Београду,
- докторанту,
- Стручној служби Факултета.

НАСТАВНО-НАУЧНОМ ВЕЋУ БИОЛОШКОГ ФАКУЛТЕТА УНИВЕРЗИТЕТА У БЕОГРАДУ

На Х редовној седници Наставно-научног већа Биолошког факултета Универзитета у Београду, одржаној 12.09.2014. године, прихваћен је извештај ментора др Марине Стаменковић-Радак и др Јасне Банковић о урађеној докторској дисертацији Зорице З. Милошевић, истраживача сарадника на Институту за биолошка истраживања „Синиша Станковић“, под насловом „**Улога mTOR и MAPK сигналних путева у резистенцији карцинома штитасте жлезде на хемиотерапију**“, и одређена је Комисија за преглед и оцену докторске дисертације у саставу др Марина Стаменковић-Радак, редовни професор Биолошког факултета Универзитета у Београду, др Јасна Банковић, виши научни сарадник Института за биолошка истраживања „Синиша Станковић“ Универзитета у Београду и др Никола Танић, научни саветник Института за биолошка истраживања „Синиша Станковић“ Универзитета у Београду.

Комисија је прегледала урађену докторску дисертацију кандидаткиње и Већу подноси следећи

ИЗВЕШТАЈ

Општи подаци о докторској дисертацији:

Докторска дисертација Зорице З. Милошевић под насловом „**Улога mTOR и MAPK сигналних путева у резистенцији карцинома штитасте жлезде на хемиотерапију**“ урађена је на Одељењу за неуробиологију на Институту за биолошка истраживања „Синиша Станковић“ Универзитета у Београду, уз финансијску подршку Министарства за просвету, науку и технолошки развој Републике Србије (кандидаткиња је истраживач сарадник на пројекту ИИИ41031).

Докторска дисертација је написана на 122 стране. Уводних страна (Насловна страна на српском и енглеском језику, Страна са информацијама о менторима и члановима комисије, Захвалница, Резиме на српском и енглеском језику, Скраћенице и Садржај) има 13. Дисертација се састоји из поглавља: Увод (30 страна), Циљеви рада (1 страна), Материјали и методе (23 стране), Резултати (29 страна), Дискусија (12 страна), Закључци (3 стране) и Литература (24 стране). Дисертација садржи 24 слике (8 у поглављу Увод, и 16 у поглављу Резултати) и 9 табела (3 у поглављу Материјали и методе и 6 у поглављу Резултати). На крају дисертације су приложена следећа документа: Биографија

аутора, Изјава о ауторству, Изјава о истоветности штампане и електронске верзије докторског рада и Изјава о коришћењу (5 страна).

Анализа докторске дисертације:

Тема ове докторске дисертације је из области молекуларне онкологије, ужа област канцерогенеза. Предмет истраживања ове дисертације су карциноми штитасте жлезде, пре свега анапластични карцином штитасте жлезде (АТС) који је изразито агресиван и урођено резистентан на хемиотерапију. С обзиром да су промене у PI3K/AKT/mTOR и RAS/MAPK/ERK сигналним путевима карактеристичне за настанак карцинома штитасте жлезде, а промене у активности наведених сигналних путева могу довести до резистенције на класичне хемиотерапеутике, испитана је улога кључних компоненти ових сигналних путева у патогенези и резистенцији АТС. Још један од могућих узрока неуспеха хемиотерапије је и појава вишеструке (енгл. мулти-друг, МДР) резистенције услед повишене експресије P-gp и BCRP транспортних пумпи, стога је испитана улога ових транспортних пумпи у резистенцији АТС.

У истраживању су коришћени парафински узорци пацијената оболелих од анапластичног карцинома штитасте жлезде сакупљени у временском периоду од 20 година. Испитиване су мутације у *p53* тумор супресору, а затим и у *RAS* (*KRAS*, *HRAS*, *NRAS*) и *BRAF* онкогенима код туморских узорака пацијената оболелих од АТС. Промене у PTEN, pAKT, pERK протеинима код АТС пацијената испитиване су имунохистохемијском анализом. *NRAS* онкоген и *p53* тумор супресор су измењени у испитиваним туморским узорцима са високом учесталošћу. Најчешће је измењен *NRAS* ген што указује на његову кључну улогу у развоју АТС. Све откривене мутације у *NRAS* гену и две мутације у *p53* гену су по први пут пријављене код АТС. Анализа повезаности свих испитиваних промена у *NRAS* и *p53* генима, као и промена у експресији PTEN, pAKT, pERK протеина у узорцима пацијената са анапластичним карциномом штитасте жлезде показала је статистички значајне корелације између промена у *NRAS* гену и pAKT протеину, као и између промена у PTEN и pERK протеинској експресији. Анализа повезаности промена између осталих анализираних гена и протеина није дала статистички значајне корелације. Између експресије PTEN и pERK протеина показана је позитивна корелација, што значи да је учесталост повећане експресије PTEN -а значајно већа код туморских узорака са повећаном експресијом pERK протеина. Између активираниог *NRAS* гена и експресије pAKT-а показана је статистички значајна негативна корелација, што

значи да је учесталост активације *NRAS* гена значајно мања код туморских узорака са повишеном експресијом pAKT протеина. Имајући у виду улогу испитиваних гена и протеина у активацији PI3K/AKT/mTOR и RAS/MAPK/ERK путева, закључује се да су ова два пута важна за генезу АТЦ, као и да се притом међусобно искључују.

Ради испитивања инхибиције кључних компоненти PI3K/AKT/mTOR и RAS/MAPK/ERK сигналних путева коришћене су хумане ћелијске линије карцинома штитасте жлезде (FRO, SW1736, 8505C). FRO је ћелијска линија слабо диференцираног карцинома штитасте жлезде, а SW1736 и 8505C су ћелијске линије анапластичног карцинома штитасте жлезде. Испитиван је ефекат класичних цитостатика доксорубицина, паклитаксела и цисплатине као и ефекат инхибитора сигналних молекула: RAS-а (типифарниб), AKT-а (GSK690693), mTOR комплекса 1 и 2 (AZD2014), мутираног BRAFV600E (дабрафениб) и PI3K (вортманин). FRO ћелијска линија се показала сензитивнијом и на инхибиторе PI3K/AKT/mTOR и RAS/MAPK/ERK сигналних путева као и на класичне хемотерапеутике, вероватно због већег степена диференцијације ћелија у односу на SW1736 и 8505C ћелије. Испитана је и улога инхибитора у сензитизацији ћелија анапластичног карцинома штитасте жлезде на класичне хемотерапеутике доксорубицин и паклитаксел. Најефикаснијим се показао двоструки mTOR инхибитор AZD2014 појединачно и у комбинацији са класичним хемотерапеутицима паклитакселом (PTX) и доксорубицином (DOX). Студије на поменутиим ћелијским линијама карцинома штитасте жлезде су показале да се инхибицијом компоненти PI3K/AKT/mTOR и RAS/MAPK/ERK сигналних путева повећава сензитивност канцер ћелија на класичну хемотерапију.

Имунохистохемијска анализа P-гр и BCRP пумпи показала је њихово значајно присуство код АТЦ пацијената што указује на учешће ових протеина у резистенцији АТЦ. Сортирањем АТЦ ћелија (8505C) на смањену акумулацију родамина 123 (Rho123), познатог P-гр супстрата, успостављена је нова АТЦ ћелијска линија (Rho-). На тај начин, добијен је модел који више одговара фенотипу уоченом код АТЦ пацијената него комерцијалне АТЦ ћелијске линије коришћене у овој студији. На овом моделу је испитана ефикасност комбинованог третмана двоструким mTOR инхибитором AZD2014 и PTX –ом који се показао најјефикаснијим у сензитизацији АТЦ ћелија. Показано је да AZD2014 не само да повећава осетљивост АТЦ ћелија (8505C, Rho-) на PTX, већ у комбинацији са овим цитостатиком ефикасно инхибира и миграцију и инвазију испитиваних канцер ћелија.

Резултати ове докторске дисертације показују да су промене у PI3K/AKT/mTOR и RAS/MAPK/ERK сигналним путевима важне за генезу и резистенцију АТС. Терапија инхибиторима кључних компоненти ових путева повећава сензитивност АТС ћелија на класичну хемиотерапију. Као најефикаснији третман у терапији АТС ћелија се показао третман двоструким mTOR инхибитором и РТХ-ом. Ефекат ове комбинације је био подједнако снажан и у инхибицији миграције и инвазије АТС ћелија. Имајући у виду да су резистентност и инвазивност АТС главни узроци лоше прогнозе овог карцинома, резултати ове докторске дисертације показују да терапија комбинацијом двоструког mTOR инхибитора и РТХ-а може допринети ефикаснијем лечењу пацијената оболелих од овог карцинома.

Радови и конгресна саопштења из докторске дисертације:

Б1. Радови у часописима међународног значаја

1. **Milosevic Z**, Pesic M, Stankovic T, Dinic J, Milovanovic Z, Stojsic J, Dzodic R, Tanic N, Bankovic J. Targeting RAS-MAPK-ERK and PI3K-AKT-mTOR signal transduction pathways to chemosensitize anaplastic thyroid carcinoma. *Transl Res* 2014; 164(5):411–423. (M21)
2. **Milosevic Z**, Tanic N, Bankovic J, Stankovic T, Buta M, Lavrnica D, Milovanovic Z, Pupic G, Stojkovic S, Milinkovic V, Ito Y, Dzodic R. Genetic alterations in quadruple malignancies of a patient with multiple sclerosis: their role in malignancy development and response to therapy. *Int J Clin Exp Pathol* 2014; 7(4):1826-1833 (M23)

Б3. Конгресна саопштења на скуповима међународног значаја

Milosevic Z., Pesic M., Bankovic J., Dinic J. Autophagy inhibition in non-small cell lung carcinoma cells increases doxorubicin efficacy. (2013) 15th International EMBL PhD Symposium: COMPETITION IN BIOLOGY – The race for survival from molecules to systems. 21-23 November, Heidelberg, Germany, Abstract book, page 53. (M34)

Б4. Конгресна саопштења на скуповима домаћег значаја

1. **Milošević Z.**, Banković J., Milinković V., Stojković S., Milovanović Z., Džodić R., Dinić J., Tanić N.. *p53* alterations in pathogenesis of anaplastic thyroid carcinoma 49. Kancerološka nedelja i 26. Stručni sastanak medicinskih sestara- tehničara onkoloških institucija Republike Srbije, 29-30. novembar 2012. godine, Beograd, Srbija. Poster prezentacija, zbornik radova, strana 89. (M64)

Мишљење и предлог Комисије:

Увидом у докторску дисертацију Зорице З. Милошевић чији смо приказ дали у извештају, а на основу приложене библиографије и непосредног увида у њен рад током израде докторске дисертације, сматрамо да је теза написана у складу са образложењем наведеним у пријави теме и да садржи све релевантне елементе неопходне за овакву врсту рада. Докторска дисертација представља оригиналан научни допринос у разјашњењу улоге PI3K/AKT/mTOR и RAS/MAPK/ERK сигналних путева у резистенцији карцинома штитасте жлезде на класичну хемиотерапију. На актуелност примењеног експерименталног дизајна и значајност резултата ове дисертације указује и реноме часописа у којем су публиковани резултати ове дисертације.

Имајући у виду све претходно наведене податке, Комисија позитивно оцењује тезу и предлаже Наставно-научном већу Биолошког факултета Универзитета у Београду да прихвати овај извештај и одобри Зорици Милошевић јавну одбрану докторске дисертације под насловом „Улога mTOR и MAPK сигналних путева у резистенцији карцинома штитасте жлезде на хемиотерапију”.

КОМИСИЈА:

др Марина Стаменковић-Радак, редовни професор
Универзитет у Београду - Биолошки факултет

др Јасна Банковић, виши научни сарадник
Универзитет у Београду - Институт за биолошка истраживања „Синиша Станковић“

др Никола Танић, научни саветник
Универзитет у Београду - Институт за биолошка истраживања „Синиша Станковић“

Београд 03.11.2014. године

