

NAU NOM VE U MEDICINSKOG FAKULTETA UNIVERZITETA U BEOGRADU

Na sednici Nau nog ve a Medicinskog fakulteta u Beogradu, održanoj dana 09.03.2017. godine, broj 5940/09, imenovana je Komisija za ocenu završene doktorske disertacije pod naslovom:

„Analiza oksidativnog stresa u tkivu papilarnog karcinoma štitaste žlezde“

kandidata dr Branislava Rov anina, zaposlenogu Centru za endokrinu hirurgiju, Klini kog Centra Srbije. Mentor je Prof. dr Ivan Paunovi , a komentor Prof. dr Kristina Gop evi .

Komisija za ocenu završene doktorske disertacije imenovana je u slede em sastavu:

1. Prof. dr Svetislav Tati , redovni profesor Medicinskog fakulteta u Beogradu
2. Prof. dr Aleksandra Isakovi , vanredni profesor Medicinskog fakulteta u Beogradu
3. Prof. dr Gordana Koci , redovni profesor Medicinskog fakulteta u Nišu

Na osnovu analize priložene doktorske disertacije, komisija za ocenu završene doktorske disertacije jednoglasno podnosi Nau nom ve u Medicinskog fakulteta slede i

IZVEŠTAJ

A) Prikaz sadržaja doktorke disertacije

Doktorska disertacija dr Branislava Rov anina napisana je na ukupno 104 strane i podeljena je na slede a poglavlja: uvod, ciljevi rada, materijal i metode, rezultati, diskusija, zaklju ci i literatura. U disertaciji se nalazi ukupno 58 tabela i dve slike. Doktorska disertacija sadrži sažetak na srpskom i engleskom jeziku, biografiju kandidata i podatke o komisiji.

U **uvodu** je definisan papilarni karcinom štitaste žlezde i predstavljeni su osnovni epidemiološki, patofiziološki, patološki, klini ki, dijagnosti ki i terapijski principi koji se odnose na ovo maligno oboljenje. Dodatno, dat je i sistemati an prikaz biološke oksidacije i redukcije, hemizam prooksidanata i antioksidanata u organizmu, kao i informacije koje se

odnose na oksidativni stres, njegov značaj u patološkim stanjima i metodama za njegovu laboratorijsku karakterizaciju.

Ciljevi rada su precizno definisani. Sastoje se od određivanja biohemijskih parametara oksidativnog stresa u tumorskom i okolnom zdravom tkivu pacijenata obolelih od papilarnog karcinoma štitaste žlezde, kao i u tkivu štitaste žlezde obolelih od benigne polinodozne strume. Dodatno, ciljevima je definisano i ispitivanje me uzavisnosti biohemijskih parametara, kao i njihove zavisnosti od demografskih, kliničkih i patoloških parametara.

U poglavlju **materijal i metode** je navedeno da se radi o studiji koja se sastoji od dve grupe pacijenata, eksperimentalne i kontrolne i koja je sprovedena u Centru za endokrinu hirurgiju Kliničkog Centra Srbije i Institutu za hemiju u medicini Medicinskog fakulteta u Beogradu. Detaljno su opisani kriterijumi za uključivanje i isključivanje iz studije, kao i na in prikupljanja demografskih, kliničkih i patoloških podataka od interesa. Opisane su i metode za prikupljanje i obradu biološkog materijala korišćenog u istraživanju. Dat je prikaz analitičkih metoda korišćenih za kvantifikaciju biohemijskih parametara u koje spadaju: određivanje koncentracije proteina, malondialdehida, završnih proizvoda oksidacije proteina, totalnog oksidativnog statusa, totalnog antioksidativnog statusa, indeksa oksidativnog stresa i ukupnog sadržaja tiola, kao i aktivnosti superoksid dismutaze, katalaze, glutation peroksidaze i glutation reduktaze u homogenizovanom tkivnom materijalu. Detaljno su opisane i statističke metode koje su korišćene za deskripciju i analizu podataka. Ova studija je sprovedena u skladu sa Helsinškom deklaracijom, a odobrena je i od strane Etičkog komiteta, Medicinskog fakulteta, Univerziteta u Beogradu. Svi pacijenti su dali pisani pristanak pre uključivanja u studiju.

U poglavlju **rezultati** detaljno su opisani i jasno predstavljeni svi dobijeni rezultati u tabelarnom prikazu.

Diskusija je napisana jasno i pregledno, uz prikaz podataka drugih istraživanja sa uporednim pregledom dobijenih rezultata doktorske disertacije.

Zaključci sažeto prikazuju najvažnije nalaze koji su proistekli iz rezultata rada, a koji su definisani ciljevima.

Korišćena **literatura** sadrži spisak od 115 referenci.

B) Kratak opis postignutih rezultata

Na osnovu dobijenih rezultata dokazano je da tkivo papilarnog karcinoma poseduje veći antioksidativni potencijal u odnosu na okolno zdravo tkivo štitaste žlezde kod obolelih od papilarnog karcinoma. U pogledu redoks statusa tkivo papilarnog karcinoma štitaste žlezde i tkivo benigne polinodozne strume se ne razlikuju značajno. Ustanovljen je i veliki broj pozitivnih i negativnih korelativnih odnosa između u biohemijskih parametara, kao i između u biohemijskih parametara sa jedne i demografskih, kliničkih i patoloških parametara sa druge strane. Postojanje velikog broja korelacija govori u prilog postojanja adekvatnog biološkog odgovora tkiva štitaste žlezde koji kompenzuje efekte povećanog oksidativnog opterećenja. Različiti patohistološki tipovi papilarnog karcinoma se ne razlikuju u pogledu oksidativno/antioksidativnog statusa. Kada su analizirani biohemijski parametri u funkciji različitog TNM stadijuma tumora, takođe nije ustanovljeno postojanje značajne razlike u njihovim nivoima između u tumora u različitim stadijumima. Analiziran je i profil biohemijskih parametara između u tumora koji poseduju i koji ne poseduju invaziju kapsule i tom prilikom je utvrđeno da između u ove dve grupe ne postoji značajna razlika. Tumori koji poseduju multicentričnu diseminaciju imaju značajno niži intenzitet lipidne peroksidacije u odnosu na tumore koji to svojstvo ne poseduju. Ispitan je i uticaj faktora kao što su pol, pušački status, postojanje oboljenja štitaste žlezde u porodici i retrosternalna lokalizacija štitaste žlezde na vrednosti biohemijskih parametara u eksperimentalnim grupama. Nije utvrđeno značajno uticaj pola na vrednosti biohemijskih parametara redoks statusa kako kod obolelih od papilarnog karcinoma štitaste žlezde, tako i kod obolelih od benigne polinodozne strume. Pokazano je da je pušenje značajno faktor koji utiče na oksidativno/antioksidativni status u tkivu štitaste žlezde. Kod pušača u tkivu papilarnog karcinoma postoji niži nivo enzimske antioksidativne zaštite, dok je kod pušača obolelih od benigne polinodozne strume otkriven veći stepen oksidativnog stresa u tkivu strume. Utvrđeno je i da je postojanje oboljenja štitaste žlezde u porodici faktor koji značajno utiče na vrednosti ispitanih biomarkera u obe eksperimentalne grupe. I za retrosternalnu lokalizaciju štitaste žlezde je utvrđeno da predstavlja faktor koji značajno utiče na redoks status obolelih od papilarnog karcinoma štitaste žlezde i benigne polinodozne strume. U studiji je evaluirana i prediktivna vrednost biohemijskih parametara redoks statusa u funkciji istovremene pojave više različitih patoloških osobina papilarnog karcinoma štitaste žlezde. Na osnovu rezultata dokazano je da su pojedini biomarkeri značajni prediktori invazije kapsule i multicentrične diseminacije tumora izražene u funkciji veličine tumora i TNM stadijuma.

C) Usporedna analiza doktorske disertacije sa rezultatima iz literature

Do danas nije objavljena studija koja se bavi ispitivanjem svih biomarkera redoks statusa koji su obuhvaćeni istraživanjem u tkivu papilarnog karcinoma štitaste žlezde. Podaci koji su do sada publikovani o oksidativnom stresu u ovom malignitetu su u najvećem broju dobijeni iz seruma obolelih, dok je ograničen broj radova iz ove oblasti na tkivnom materijalu. Dizajn postojanja dve kontrolne grupe ima posebnu vrednost, jer pruža uvid u poređenje rezultata dobijenih u tumorskom tkivu sa normalnim tkivom i benignim oboljenjem štitaste žlezde kakvo je polinodoznom struma. Značajno je navesti da su ukupan sadržaj tiola i završni proizvodi oksidacije proteina po prvi put kvantifikovani u ovom istraživanju na tkivu papilarnog karcinoma štitaste žlezde i benigne polinodozne strume. Tumorsko tkivo se karakteriše značajno višim stepenom ukupne antioksidativne sposobnosti u odnosu na normalno tkivo štitaste žlezde, kao i nižim vrednostima indeksa oksidativnog stresa. Istraživanje Nadolnjika i saradnika je takođe pokazalo da postoji povećana antioksidativna aktivnost u tkivu papilarnog karcinoma štitaste žlezde, a istovremeno isti je značaj oksidativnog stresa u patogenezi benigne polinodozne strume, što je pokazano i ovim istraživanjem (Nadolnik LI, 2006). S obzirom da je ukupan sadržaj tiola u tumorskom tkivu, ako i u kontrolnim tkivima prvi put ispitan u ovoj studiji, ne postoje literaturni podaci sa kojima bi dobijeni rezultati mogli da se porede. Na animalnom modelu je pokazano da je ukupni sadržaj tiola bitan inhibitor od slobodnih radikala i da oni kvantitativno najzastupljeniju komponentnu ukupnog antioksidativnog statusa u tkivnim homogenatima (Balcerczyk A, 2003). Studija Stenlija i saradnika je po svojoj sadržini i eksperimentalnom dizajnu najkomplementarnija ovom istraživanju. Autori su na tkivnom nivou pokazali da papilarni karcinom štitaste žlezde poseduje povećanu lipidnu peroksidaciju, kao i aktivnost antioksidativnih enzima superoksid dismutaze, glutation peroksidaze i glutation reduktaze, dok se aktivnost katalaze ne razlikuje značajno u odnosu na tkivo benigne polinodozne strume (Stanley JA, 2016). Do sada nisu objavljene studije koje su ispitale zavisnost između redoks statusa sa jedne i demografskih, kliničkih i patoloških karakteristika sa druge strane, a koje su u velikom broju otkrivene u ovom istraživanju. Povezanost aktivnosti superoksid dismutaze i postojanja metastaza u limfnim nodusima, kao i ekstratiroidne diseminacije koja je otkrivena kod obolelih od papilarnog karcinoma štitaste žlezde se može dovesti u vezu sa progresijom karcinoma, a što je prethodno pokazano na primeru brojnih humanih maligniteta (Robbins D, 2014). O značaju ispitivanja oksidativno/antioksidativnog statusa na tkivnom nivou govori činjenica da određivanje redoks statusa u serumu obolelih od papilarnog karcinoma ne može da predstavlja

refleksijutkivnog statusa, o emu govori studija Tabura i saradnika, u kojoj se dobijeni rezultati ne mogu preslikati na rezultate dobijene na tkivnom materijalu, kako u ovoj, tako i u drugim navedenim studijama (Tabur S, 2015).

D) Objavljeni radovi koji ine deo doktorske disertacije

Rovcanin BR, Gopcevic KR, Kekic DLj, Zivaljevic VR, Diklic ADj, Paunovic IR. Papillary Thyroid Carcinoma: A Malignant Tumor with Increased Antioxidant Defense Capacity. *Tohoku J Exp Med.* 2016; 240(2): 101-111. doi: 10.1620/tjem.240.101.

E) Zaključak (obrazloženje nau nog doprinosa)

Doktorska disertacija „Analiza oksidativnog stresa u tkivu papilarnog karcinoma štitaste žlezde“ dr Branislava Rov anina, kao prvi ovakav rad u našoj populaciji predstavlja originalni nau ni doprinos u razumevanju povezanosti oksidativno/antioksidativnog statusa i bioloških svojstava papilarnog karcinoma štitaste žlezde i benigne polinodozne strume. Istraživanje predstavlja i prvu studiju koja je istovremeno kvantifikovala sve navedene biomakere redoks statusa, a neke od njih i po prvi put na materijalu tkiva štitaste žlezde, na osnovu dostupnih literaturnih podataka.

Ustanovljeno je da papilarni karcinom štitaste žlezde poseduje manji nivo oksidativnog stresa, kao i ve i antioksidativni potencijal u odnosu na normalno kontrolno tkivo štitaste žlezde. Tako e, papilarni karicnom i benigna polinodozna struma štitaste žlezde se ne razlikuju u pogledu tkivnog nivoa oksidativnog stresa. Dokazano je i da tkivo benigne polinodozne strume ima ve i antioksidativni potencijal od normalnog tkiva štitaste žlezde, koje u odnosu na tkivo strume poseduje izraženiju neenzimsku antioksidativnu zaštitu. Otkriven je i veliki broj zavisnosti izme u biohemijskih parametara, kao i izme u biohemijskih markera i klini kih, demografskih i patoloških karakteristika. Razli iti patohistološki tipovi papilarnog karcinoma štitaste žlezde se ne razlikuju u pogledu ispitanih parametara oksidativno/antioksidativnog statusa, iji je uticaj zna ajan na više razli itih patoloških osobina tumora.

Ova doktorska disertacija je ura ena prema svim principima nau nog istraživanja. Ciljevi su precizno definisani, nau ni pristup je originalan i pažljivo izabran, a metodologija rada je savremena. Rezultati su pregledno i sistemati no prikazani i diskutovani, a iz njih su izvedeni odgovaraju i zaklju ci.

Na osnovu svega navedenog, i imaju i u vidu dosadašnji nau ni rad kandidata, komisija predlaže Nau nom ve u Medicinskog fakulteta Univerziteta u Beogradu da prihvati doktorsku disertaciju dr Branislava Rov anina i odobri njenu javnu odbranu radi sticanja akademske titule doktora medicinskih nauka.

U Beogradu, 27.03.2017. godine

lanovi Komisije:

Mentor:

Prof. dr Svetislav Tati

Prof. dr Ivan Paunovi

Komentor:

Prof. dr Aleksandra Isakovi

Prof. dr Kristina Gop evi

Prof. dr Gordana Koci
