

## **NAUČNOM VEĆU MEDICINSKOG FAKULTETA UNIVERZITETA U BEOGRADU**

Izveštaj o ispunjenosti uslova i ocena opravdanosti predloga teme za izradu doktorske disertacije

„EKSPRESIJA PROTEINA ODRŽAVANJA MINIHROMOZOMA U KERATINOCITNOJ INTRAEPIDERMALNOJ NEOPLAZIJI I INVAZIVNOM PLANOCELULARNOM KARCINOMU KOŽE“

**Kandidat: Dr. Jelena Stojković Filipović mr sci med**

Odlukom Naučnog veća Medicinskog fakulteta u Beogradu od 17. 11. 2010. godine imenovana je Komisija za ocenu podobnosti prijavljene doktorske disertacije "EKSPRESIJA PROTEINA ODRŽAVANJA MINIHROMOZOMA U KERATINOCITNOJ INTRAEPIDERMALNOJ NEOPLAZIJI I INVAZIVNOM PLANOCELULARNOM KARCINOMU KOŽE" kandidata dr. Jelena Stojković Filipović, u sastavu:

1. Prof. dr Miloš Nikolić, Medicinski fakultet Univerziteta u Beogradu
2. Prof. dr Ivan Boričić, Medicinski fakultet Univerziteta u Beogradu
3. Viši naučni saradnik dr Mirela Budeč, Institut za medicinska istraživanja Univerziteta u Beogradu

**Mentor:** Prof. dr Dimitrije Brašanac, Medicinski fakultet Univerziteta u Beogradu

**Komentor:** Prof. dr Ljiljana Medenica, Medicinski fakultet Univerziteta u Beogradu

Na osnovu analize priložene dokumentacije u vezi sa temom predložene doktorske disertacije, nakon razgovora sa kandidatom, a prema kriterijumima za procenu podobnosti teme, članovi Komisije podnose Naučnom veću Medicinskog fakulteta u Beogradu sledeći

### **IZVEŠTAJ**

#### **A. Podaci o kandidatu:**

Jelena Stojković-Filipović, rođena 20. avgusta 1974. godine u Beogradu. Osnovnu školu pohađala u periodu od 1981. do 1989. godine u Beogradu, a od 1989. do 1993. godine gimnaziju "Sveti Sava" u Beogradu. Na Medicinski fakultet u Beogradu upisala se 1993. godine, a diplomirala 2000. godine sa prosečnom ocenom 9.0. Specijalizaciju iz dermatovenerologije započela 2001. godine na katedri za Dermatovenerologiju Medicinskog fakulteta u Beogradu, kao stalno zaposlena na Institutu za dermatovenerologiju i položila specijalistički ispit 2006. godine, sa odličnim uspehom. Poslediplomske studije upisala na Medicinskom fakultetu u Beogradu, na katedri za Onkologiju 2000. godine. Magistarsku tezu "Ekspresija ciklina i regulatornih proteina ćelijskog ciklusa u keratinocitnoj intraepidermalnoj neoplaziji i planocelularnom karcinomu kože", mentor prof. dr Dimitrije Brašanac, odbranila je januara 2009. godine.

#### **B. Spisak publikovanih radova kandidata objavljenih u celini**

1. **Stojkovic-Filipovic J**, Gajic-Veljcic M, Ivanovski P, Nikolic M. Thick skin, nodules, and immobility in an infant. Infantile systemic hyalinosis. *Pediatr Dermatol* 2008; 25:557-8.
2. Vesić S, Đaković Z, Vukićević J, Vuković J, **Stojković J**, Medenica Lj. Dermatomyositis udružen sa metastatskim karcinomom rektuma: prikaz slučaja. *Medi Pregl* 2009; LXII (9-10): 473-475.

### **C. OBRAZLOŽENJE TEME:**

#### **1. NAUČNA OBLAST:**

MEDICINA (**Dermatoonkologija**)

#### **2. PREDMET RADA:**

Vršiće se ispitivanje uzoraka aktinične keratoze, Bowenove bolesti (intraepitelni/in situ karcinom) i invanzivnog planocelularnog karcinoma kože, imunohistohemijski bojenih na proteine održavanja minihromozoma (engl. minichromosome maintenance proteins – MCM) – MCM 2, MCM5 i MCM7. Uzorak će činiti 300 lezija, 150 preinvazivnih (aktinična keratoza i Bowenova bolest) i 150 invazivnih tumora.

Razultati imunohistohemijskog bojenja biće analizirani u odnosu na tip lezije, kliničke i histopatološke prognostičke parametre planocelularnog karcinoma kože (dimenzije, dubina invazije, maksimalna debljinu tumora i stepen diferentovanosti – gradus tumora). Takođe, preinvazivne lezije će biti klasifikovane i ispitivane i kao keratinocitna intraepidermalna neoplazija.

#### **3. CILJ ISTRAŽIVANJA:**

1. Ispitivanje ekspresije proteina održavanja minihromozoma MCM 2, 5 i 7 u aktiničnoj keratozi i Bowen-ovoj bolesti (keratinocitna intraepidermalna neoplazija), kao i invazivnom planocelularnom karcinomu kože.
2. Poređenje ekspresije MCM 2, 5 i 7 i prognostičkih parametara planocelularnog karcinoma kože – dimenzije, dubina invazije, debljina i gradus tumora.
3. Procena različitih načina evaluacije imunohistohemijskog bojenja i ekspresije MCM proteina u odnosu na tip lezije i prognostičke parametre.

#### **4. METODE ISTRAŽIVANJA:**

Ispitivanje će se vršiti na arhivskim parafinskim kalupima Instituta za patologiju Medicinskog fakulteta u Beogradu. Za formiranje uzorka predviđeno je korišćenje tehnike tkivnog mikroniza (engl. tissue microarray – TMA) koja omogućava ispitivanje većeg broja slučajeva uz minimalno trošenje parafinskih kalupa. Na hematoksilin-eozin (HE) bojenim pločicama, u svakom uzorku će se različitom bojom označavati tri tipična mesta sa kojih će se iz odgovarajućeg parafinskog kalupa (kalup davalac) iglom unutrašnjeg promera 1,2 mm uzimati tkivni cilindri za formiranje tkivnog mikroniza. Ukupno 60 tkivnih cilindara (20 slučajeva) će biti prenošeno u svaki kalup primalac u 6 kolona i 10 redova. Za svaki konstruisani kalup sa TMN će se popunjavati tabela u kojoj su pojedinačni tkivni cilindri obeleženi identifikacionim brojem kalupa i bojom kojom su označeni različiti delovi tumora. Iz novoformiranih parafinskih kalupa sa TMN na mikrotomu će se narezivati isecci za imunohistohemijsko bojenje streptavidin-biotin tehnikom, uz primarna antitela na MCM 2, MCM5 i MCM7. Obojene pločice će se analizirati svetlosnim mikroskopom u smislu distribucije i obima imunopozitivnosti (semikvantitativno). Takođe, fotografisaće se digitalnom kamerom visoke rezolucije i uz primenu odgovarajućeg softvera ispitivati obim ekspresije preko indeksa obeležavanja (procenat pozitivnih ćelija). Dobijeni rezultati će se porediti sa tipom lezije i prognostičkim parametrima tumora, a za određivanje statističke značajnosti odnosa rezultata imunohistohemijskog bojenja i karakteristika tumora koristiće se hi-kvadrat, Mann-Whitney i Kruskal-Wallis test kao i ANOVA i multipli t-test. Za ispitivanje odnosa ekspresije pojedinih MCM proteina koristiće se Spearman koeficijent korelacije.

## **5. AKTUELNOST PROBLEMATIKE U SVETU:**

Planocelularni karcinom kože je po učestalosti druga maligna neoplazma (posle bazocelularnog karcinoma) koja u najvećem broju slučajeva nastaje progresijom aktinične keratoze i Bowenove bolesti (in situ karcinom kože). Po novijim shvatanjima aktinična keratoza nije prekancerozna lezija već rana faza evolucije planocelularnog karcinoma a Bowenova bolest je deo kontinuirane maligne transformacije. Za preinvazivne lezije je predložena, po analogiji sa promenama na grliću materice, terminologija keratinocitna intraepidermalna neoplazija koja se, uprkos otporima menjanju tradicionalnih klasifikacija, pojavljuje, za sada više kao koncept nego u praktičnoj primeni. Kako je za pojedinačne promene klinički nemoguće predvideti koja će, i kojom dinamikom, progredirati u invazivni karcinom, inicirana je potraga za molekularnim markerima koji bi objasnili ovu evoluciju. Proteini održavanja minihromozoma (engl. minichromosome maintenance proteins - MCM), imaju ulogu u proliferaciji ćelija, dok se u ćelijama koje su u stanju mirovanja i diferencijacije njihova ekspresija gubi. To ih čini potencijalno odličnim markerima umnožavanja ćelija te je njihovo ispoljavanje analizirano u velikom broju tumora. U koži međutim, ova ispitivanja su tek u začetku, a u aktiničnoj keratozi i planocelularnom karcinomu analizirani su, u dva do sada publikovana rada, samo pojedini MCM proteini, bez poređenja sa kliničkim i histopatološkim prognostičkim parametrima, izuzev tumorskog gradusa. O značaju MCM proteina u onkologiji govore i prvi pokušaji primene terapije malignih tumora primenom inhibitora aktivnosti ovih molekula.

## **6. OČEKIVANI REZULTATI:**

Ova studija bi trebalo da pruži prvi prikaz ekspresije više proteina održavanja minihromozoma u preinvazivnim skvamoznim lezijama kože klasifikovanim kao keratinocitna intraepidermalna neoplazija, kao i prvu analizu odnosa njihovog ispoljavanja i prognostičkih parametara planocelularnog karcinoma kože. To bi doprinelo boljem razumevanju njihove uloge u evoluciji malignih epidermalnih lezija i ukazalo na njihovu moguću primenu kao proliferativnih i prognostičkih markera. Uzimajući u obzir skorašnje pokušaje primene genetske terapije pojedinih tumora primenom inhibitora MCM proteina, ovakve analize bi u budućnosti mogle biti neophodne, za evaluaciju pacijenata za koje bi ovaj tip lečenja bio adekvatan. Slične procedure za druge tumore (npr. karcinom dojke) pokazale su važnost načina procene ekspresije pojedinih biomarkera, a ova studija analizira i različite načine ispitivanja ispoljavanja MCM proteina u odnosu na tipove lezija i prognostičke parametre.

## **D. ZAKLJUČAK** (obrazloženje opravdanosti teme)

Na osnovu analize priložene dokumentacije, članovi komisije smatraju da je predložena tema doktorske disertacije "EKSPRESIJA PROTEINA ODRŽAVANJA MINIHROMOZOMA U KERATINOCITNOJ INTRAEPIDERMALNOJ NEOPLAZIJI I INVAZIVNOM PLANOCELULARNOM KARCINOMU KOŽE " kandidata dr Jelene Stojković Filipović značajna i aktuelna i da u potpunosti ispunjava uslove za originalan naučni doprinos u istraživanjima koja se odnose na ispoljavanje molekularnih prognostikih markera u malignim keratinocitnim neoplazmama, počevši od najranijih faza u njihovom razvoju. Kako se radi o lezijama koje spadaju u najčešće humane maligne tumore, ovakva analiza bi doprinela ne samo boljem razumevanju ćelijskih mehanizama progresije ovog tipa neoplazmi već i mogućim novim dijagnostičkim procedurama bitnim za primenu budućih, naprednijih i selektivnijih terapijskih pristupa lečenju ovog tipa tumora.

Dosadašnji stručni i naučni rad kandidata dr Jelene Stojković Filipović, i mentora, prof. dr Dimitrija Brašanca i komentora prof. dr Ljiljane Medenice, predviđena metodologija, kao i aktuelnost predložene teme, predstavljaju realnu osnovu za očekivanje da će istraživanje biti izvršeno kompetentno i na savremen način.

Stoga, na osnovu celokupne analize priloženog materijala, Komisija jednoglasno zaključuje da su, pored zakonskih, ispunjeni i svi ostali formalni uslovi i na osnovu toga predlaže Naučnom veću Medicinskog fakulteta da kandidatu dr [Jeleni Stojković Filipović](#) odobri izradu doktorske disertacije sa predloženom temom.

Komisija:

Beograd, 12. 12. 2011. godine

---

1. Prof. dr Miloš Nikolić

---

2. Prof. dr Ivan Boričić

---

3. Viši naučni saradnik dr Mirela Budeć