

Биолошки факултет
Број захтева:50/136-1
Датум: 14. 6. 2024.

УНИВЕРЗИТЕТ У БЕОГРАДУ
ВЕЋУ НАУЧНИХ ОБЛАСТИ ПРИРОДНИХ НАУКА

ЗАХТЕВ

за давање сагласности на одлуку о прихватању теме докторске дисертације и о одређивању ментора

Молимо да, сходно чл. 48 ст. 5 тач. 3) Статута Универзитета у Београду („Гласник Универзитета“ бр. 201/2018, 207/2019, 213/2020, 214/2020, 217/2020, 230/21, 232/22, 233/22 и 236/22), дате сагласност на одлуку о прихватању теме докторске дисертације:

„Значај течне биопсије у дијагностици, прогнози и предвиђању одговора на терапију код пацијената са карциномом плућа”

НАУЧНА ОБЛАСТ: Биолошке науке.

ПОДАЦИ О КАНДИДАТУ:

1. Име, име једног родитеља и презиме кандидата:

Миодраг Љ. Вуковић

2. Претходно образовање (назив и седиште факултета, студијски програм):

Универзитет у Београду - Биолошки факултет.

3. Година дипломирања: 2020.

4. Година уписа на докторске студије: 2021/2022.

Универзитет у Београду - Биолошки факултет

5. Назив студијског програма докторских студија: Биологија, модул: Ћелијска и молекуларна онкологија.

подношења пријаве теме докторске дисертације: 29. 4. 2024.

ПОДАЦИ О МЕНТОРУ

А:

Име и презиме ментора: **др Милена Чавић**,

Звање: научни саветник, Институт за онкологију и радиологију Србије, Београд.

Списак радова који квалификују ментора за вођење докторске дисертације:

1. Jokic V, Savic-Vujovic K, Spasic J, Bukumiric Z, Marinkovic M, Radosavljevic D, **Cavic M**. Evaluation of Clinical and Genetic Determinants of Treatment Outcome in EGFR Mutation Positive Advanced Lung Adenocarcinoma. Dose Response, 2022, 20(3):15593258221117354. doi: 10.1177/15593258221117354. M22
2. **Cavic M**, Kovacevic T, Zaric B, Stojiljkovic D, Jovanovic Korda N, Rancic M, Jankovic R, Radosavljevic D, Stojanovic G, Spasic J. Lung Cancer in Serbia. Journal of Thoracic Oncology. 2022, 17(7): 867-872. <https://doi.org/10.1016/j.jtho.2022.04.010>. M21a
3. Spasic J, **Cavic M**, Stanic N, Zaric B, Nagorni-Obradovic Lj, Radosavljevic D. Low-Cost Genetic and Clinical Predictors of Response and Toxicity of Platinum-Based Chemotherapy in Advanced Non-Small Cell Lung Cancer. Dose Response. 2022. 20(2): 15593258221111666. doi: 10.1177/15593258221111666. M22
4. Jokic V, Savic-Vujovic K, Spasic J, Marinkovic M, Stanic N, Radosavljevic D, **Cavic M**. The significance of haematological parameters in predicting survival and toxicity in EGFR-mutated advanced non-small cell lung cancer patients treated with tyrosine kinase inhibitors. Expert Review of Anticancer Therapy. 2021, 21(6):673-679. doi: 10.1080/14737140.2021.1893694. ISSN 1473-7140. M22
5. **Cavic M**, Krivokuca A, Pavlovic M, Boljevic I, Rakobradovic J, Mihajlovic M, Tanic M, Damjanovic A, Malisic E, Jankovic R. EGFR mutation testing from liquid biopsy of non-small cell lung cancer at the Institute for Oncology and Radiology of Serbia. J BUON. 2020. 25(6):2635–2648. M23

Б:

Име и презиме ментора: **др Александра Кораћ**,

Звање: редовни професор, Универзитет у Београду - Биолошки факултет.

Списак радова који квалификују ментора за вођење докторске дисертације:

1. Matijašević Joković S, **Korać A**, Kovačević S, Djordjević A, Filipović L, Dobrijević Z, Brkušanić M, Savić-Pavićević D, Vuković I, Popović M, Brajušković G. ((2024) Exosomal prostate-specific membrane antigen (PSMA)

and caveolin-1 as potential biomarkers of prostate cancer-evidence from Serbian population. *Int J Mol Sci*, 21;25(6):3533. doi: 10.3390/ijms2506353

2. Matijasevic-Jokovic S, Dobrijevic Z, Kotarac N, Filipovic L, Popovic M, **Korac A**, Vukovic I, Savic-Pavicevic D, Brajuskovic G. (2022) MiR-375 and miR-21 as potential biomarkers of prostate cancer: Comparison of matching samples of plasma and exosomes. *Genes*, 13(12):2320. doi: 10.3390/genes13122320
3. Kalezic A, Udicki M, Srdic-Galic B, Aleksic M, **Korac A**, Jankovic A, Korac B. (2021) Tissue-specific Warburg effect in breast cancer and cancer-associated adipose tissue-relationship between AMPK and glycolysis. *Cancers*, 13(11):2731. doi: 10.3390/cancers13112731
4. Maksimovic-Ivanic D, Bulatovic M, Edeler D, Bensing C, Golic I, **Korac A**, Kaludjerovic G, Mijatovic S. (2019) The interaction between SBA-15 derivative loaded with Ph₃Sn(CH₂)₆OH and human melanoma A375 cell line: uptake and stem phenotype loss. *J Biol Inorg Chem*, 24(2):223-234. doi: 10.1007/s00775-019-01640-x
5. Stojanović S, Najman S, **Korać A**. (2018) Stem cells derived from lipoma and adipose tissue-similar mesenchymal phenotype but different differentiation capacity governed by distinct molecular signature. *Cells*, 7(12):260. doi: 10.3390/cells7120260.

Обавештамо вас да је Наставно-научно веће Универзитета у Београду-Биолошког факултета, на седници одржаној 14. 6. 2024. год. размотрило предложену тему и закључило да је тема подобна за израду докторске дисертације јер садржи оригиналну идеју и да је од значаја за развој науке, примену њених резултата, односно развој научне мисли уопште.

Декан Биолошког факултета

Проф. др Љубиша Станисављевић

Прилог:

1. Предлог теме докторске дисертације са образложењем.
2. Акт надлежног тела факултета о подобности теме за израду докторске дисертације.
3. Електронска верзија
4. Потврда Етичке комисије



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

50/136 - 14. 6. 2024.

На основу члана 96. Закона о високом образовању, члана 62. став 1. тачка 12. Статута Универзитета у Београду-Биолошког факултета и члана 29. Правилника о докторским студијама на Универзитету у Београду-Биолошком факултету, бр: 15/276 од 07.09.2018; 15/122 од 14.06.2019.; 15/132 од 11.09.2020. године., Наставно-научно веће Факултета, на VIII редовној седници одржаној 14. 6. 2024. године, донело је

О Д Л У К У

о прихватању теме докторске дисертације и одређивању ментора

На основу Извештаја Комисије за оцену научне заснованости теме докторске дисертације прихвата се тема докторске дисертације и одређује ментор кандидату:

Миодрагу Љ. Вуковићу, мастер биолог, студијског програма докторских студија: Биологија, модул: Ћелијска и молекуларна онкологија, под називом:

„Значај течне биопсије у дијагностици, прогнози и предвиђању одговора на терапију код пацијената са карциномом плућа”

За менторе се одређују:

1. др Милена Чавић, научни саветник, Институт за онкологију и радиологију Србије, Београд,
2. др Александра Кораћ, редовни професор, Универзитет у Београду - Биолошки факултет.

Декан Биолошког факултета

Проф. др Љубиша Станисављевић

Доставити:

- Универзитету у Београду,
- докторанту,
- ментору;
- Стручној служби Факултета

**НАСТАВНО-НАУЧНОМ ВЕЋУ БИОЛОШКОГ ФАКУЛТЕТА
УНИВЕРЗИТЕТА У БЕОГРАДУ**

На VII редовној седници Наставно-научног већа Биолошког факултета Универзитета у Београду одржаној 13.05.2024. године, одређени смо у Комисију за оцену испуњености услова и научне заснованости предложене теме за израду докторске дисертације **Миодрага Љ. Вуковића**, под насловом: „Испитивање значаја течне биопсије у дијагностици, прогнози и предвиђању одговора на терапију код пацијената са карциномом плућа”.

На основу поднете документације и увида у досадашњи рад **Миодрага Љ. Вуковића**, Комисија подноси Наставно-научном већу Биолошког факултета Универзитета у Београду следећи:

ИЗВЕШТАЈ

А. Биографија:

Општи подаци:

Име, средње слово и презиме: Миодраг Љ. Вуковић

Датум и место рођења: 28. 03. 1997, Пећ

Образовање:

- 2021. Уписане докторске академске студије, програм Биологија, модул Ћелијска и молекуларна онкологија, Биолошки факултет, Универзитет у Београду
- 2021. Мастер биолог, модул Примењена генетика, Биолошки факултет, Универзитет у Београду, просечна оцена током студија 10,00; мастер рад: „Експресија *miR-146a* гена и генска варијанта rs2910164 као потенцијални дијагностички и прогностички биомаркери оралног карцинома”
- 2020. Дипломирани биолог, Биолошки факултет, Универзитет у Београду, просечна оцена током студија 9,71

Запослење:

2022- Истраживач приправник у Лабораторији за молекуларну генетику Института за онкологију и радиологију Србије

Курсеви:

1. NGS обука: AVENIO CGP application training IORS
2. NGS обука: TSO 500 training
3. Post-award Grant Management Training, October 4, 2023, organized by the STEPUPIORS Horizon Europe project
4. STEPUPIORS Omics workshop, Athens June 01-02, 2023
5. Taq Academy the qPCR and dPCR excellence Training- Academic & Biopharma Session 26th September 2023

Пројекти:

Волонтер на пројекту *Horizon Europe Framework Programme (HORIZON-WIDERA-2021-ACCESS-03, STEPUPIORS – 101079217): Twinning for a European Consortium of Rectal Cancer Research Institutions through Stepping Up Scientific, Technological and Innovation Excellence of IORS*

Чланство у научним друштвима:

Српско друштво истраживача рака
Европско друштво истраживача рака
Биохемијско друштво Србије
Српско друштво за екстрацелуларне везикуле

Страни језици:

Енглески

Б) Библиографија:

Б1. Радови у часописима међународног значаја

1. **Vukovic, M.**, Tanic, M., Damjanovic, A., Pavlovic, M., Stanojevic, A., Zivic, K., ... & Cavic, M. (2023). EGFR mutation testing from pleural effusions of non-small cell lung cancer patients at the institute for oncology and radiology of Serbia. *Translational Oncology*, 37, 101772. **M22**
2. Mišović, M., Aleksić, P., **Vuković, M.**, Kostić, D., Rančić, N., & Aleksić-Cikota, B. (2022). The impact of GAS5 rs145204276 on development and prognosis of prostate cancer. *Genetika*, 54(3), 1147-1155. <https://doi.org/10.2298/GENSR2203147M> **M23**
3. Mišović, M., Aleksić, P., Kostić, D., **Vuković, M.**, Radojičić, B., Rančić, N., & Aleksić, B. C. (2023). The levels of circulating long non-coding RNA GAS5 in prostate carcinoma patients: a single-center study. *Vojnosanitetski Pregled*, 80(5), 404–411. <https://doi.org/10.2298/VSP220412075M> **M23**

Б2. Конгресна саопштења на скуповима међународног значаја штампана у изводу

1. **Vukovic M.**, Stojkovic G, Zeljic K. (2021) Diagnostic and prognostic potential of miR-146a gene expression in oral carcinoma. 5th Congress of the Serbian Association for

Cancer research (SDIR) with international participation: „Translational potential of cancer research in Serbia”, virtual congress, 03.12.2021. Belgrade, Serbia, Book of abstracts, p47.

2. Cavic M, Damjanovic A, Boljević I, Pavlovic M, Stefanovic A, Zivic K, **Vukovic M**, Tanic M, Janković R. EGFR mutation testing from pleural effusions of advanced lung adenocarcinoma patients in Serbia. ESMO Congress 2022, September 9-13, 2022. Annals of Oncology, vol.33, Suppl. 7, p.S983, Abstract 953P. DOI: 10.1016/j.annonc.2022.07.1079. Poster presentation
3. **Vuković M**, Damjanović A, Vukadinović D, Dobričić V, Grahovac J. Antimelanoma potential of new telmisartan analogues without AT1 receptor activity. 6th Congress of the Croatian Association for Cancer research (HDIR) with international participation: „Targeting cancer”, November 10-12, 2022. Zagreb, Croatia, Book of abstracts, p20.
4. Damjanović A, **Vuković M**, Vukadinović D, Dobričić V, Grahovac J. The effects of telmisartan and its derivatives on autophagy and mitochondrial fission in melanoma cell line. EACR 2023 Congress: Innovative Cancer Science, June 12-15, 2023, Torino, Italy, Molecular Oncology, Volume 17, Supplement 1, June 2023, p351. Poster presentation
5. **Vukovic M**, Filipovic L, Popovic M, Petrovic N, Tanic M, Jankovic R, Korac A, Cavic M. Isolation and characterization of extracellular vesicles from pleural effusion samples of patients with advanced non-small cell lung cancer. Small New World 2.0, September 4-5, 2023. Graz, Austria, Abstract Book, p51. Poster presentation P36.
6. **Vuković M**, Stefanović A, Karadžić V, Damjanović A, Tišma Miletić N, Tanić M, Janković R, Čavić M. Detection of resistant EGFR T790M mutation from liquid biopsy samples of patients with advanced non-small cell lung cancer: comparison of qPCR and dPCR detection methods. SDIR6: “From collaboration to innovation in cancer research”, October 02-04, 2023, Belgrade, Serbia, Oncology Insights, p71. Poster presentation
7. Karadžić V, Stefanović A, **Vuković M**, Damjanović A, Čavić M, Janković R. Simultaneous EGFR L858R and T790M mutations in treatment-naive metastatic lung adenocarcinoma: a case study and therapeutic implications. SDIR6: “From collaboration to innovation in cancer research”, October 02-04, 2023, Belgrade, Serbia, Oncology Insights, p91. Poster presentation

B3. Конгресна саопштења на скуповима домаћег значаја

1. **Vuković M**, Damjanović A, Stefanović A, Tišma Miletić N, Pavlović M, Živić K, Tanić M, Janković R, Čavić M. Upotreba pleuralnog izliva za detekciju EGFR mutacija u nesitnoćelijskom karcinomu pluća na Institutu za onkologiju i radiologiju Srbije. 59. Kancerološka nedelja, 23-26 novembar 2022, Beograd, Srbija, Anali Kancerološke sekcije, Knjiga apstrakata, str. 144-145.
2. Janković R, Damjanović A, Stefanović A, **Vuković M**, Čavić M. Molekularna dijagnostika melanoma: problemi iz kliničke prakse. 59. Kancerološka nedelja, 23-26 novembar 2022,

В. Тема докторске дисертације:

Наслов дисертације:

„Значај течне биопсије у дијагностици, прогнози и предвиђању одговора на терапију код пацијената са карциномом плућа”

Полазне основе:

Карцином плућа је најчешће дијагностификовани канцер на свету и узрочник највећег броја смртних случајева изазваних канцером, са око 1,8 милиона смртних случајева годишње [1]. Има веома лошу прогнозу, а петогодишње преживљавање се креће од 4 до 17% у зависности од стадијума, као и времена дијагностификовања болести. Србија је једна од земаља са највећим бројем оболелих (22,4/100000 особа) и највећом стопом морталитета (93,4% за мушкарце, 40,7% за жене на 100000 особа годишње) од карцинома плућа на свету, са аденокарциномом као најчешћим подтипом [2]. Недостатак клиничких симптома у раним фазама болести и непостојање националног програма за скрининг карцинома плућа сматрају се кључним факторима зашто се највећи број пацијената дијагностификује у унапредовалој фази болести у Србији. У току прошле деценије, биомаркери из ткива и крви помогли су у одабиру терапеутика за унапредовали неситноћелијски карцином плућа (енг. Non-Small Cell Lung Cancer – NSCLC), а третман циљаним терапијама довео је до бољег клиничког исхода у односу на традиционалну цитотоксичну терапију [3]. Молекулске циљане терапије које се дају у зависности од детектоване покретачке „driver” мутације, као што су мутације у генима *EGFR*, *ALK* и *ROS1* код пацијената са унапредовалим NSCLC-ом увелико се налазе у свакодневној клиничкој пракси. Међутим, није увек могуће добити довољну количину ткива за генетичко тестирање, како због ограниченог приступа плућном ткиву, тако неретко и због лошег квалитета биопсије или недовољне количине за генетичко тестирање. Због тога је урађен велики број истраживања употребе циркулишуће ДНК пореклом из тумора (енг. Circulating tumor DNA, ctDNA), која се изолује из различитих типова телесних течности, укључујући плазму, плеурални излив, цереброспиналну течност, урин и саливу [4]. Течне биопсије су минимално инвазивне и у одређеним ситуацијама могу бити супериорније у односу на ткивну биопсију у репрезентовању интра и интертуморске хетерогености.

Нека ограничења у употреби циркулишуће ДНК изоловане из крви, довела су до употребе других доступних телесних течности, као што су урин, цереброспинална течност, и посебно, у карциному плућа, плеурални излив. Малигни плеурални излив код пацијената са карциномом плућа представља вишак течности која се акумулира између

плућа и плеуралне шупљине. Може се јавити као компликација прогресивних карцинома плућа, и обухвата од 7% до 23% пацијената [5].

Познато је да тумори отпуштају велики број својих продуката у плеурални излив као резултат раста у плеуралној шупљини. Ови производи су молекуларни индикатори степена развоја тумора и представљају извор детектабилних биомаркера корисних у дијагностици, прогнози болести и терапијској интервенцији. Плеурални излив је богат извор циркулишућих нуклеинских киселина (ДНК и РНК), ћелијских ентитета укључујући циркулишуће туморске ћелије, тумор-асоциране ћелије и екстрацелуларне везикуле [6]. У зависности од тога који потенцијални биомаркер се испитује, зависи и примарна обрада узорка. Уколико је циљ детекција таргетабилних мутација из циркулишуће ДНК пореклом из ПИ, узорак се прво центрифугира, одакле се добијају две фракције: прва, ћелијски седимент који се користи за цитолошке анализе, и друга фракција, супернатант без ћелија који се углавном користи за биохемијске анализе [7]. Што се тиче анализе циркулишуће туморске ДНК, она се може радити из обе фракције, с тим што фракција ћелијског седимента показује смањену сензитивност за молекуларно-генетичко тестирање у односу на фракцију без ћелија [8]. Генерално, дужина фрагмената циркулишуће ДНК се разликује у различитим типовима телесних течности, па је тако у крви просечна дужина фрагмената 160 базних парова, док у супернатанту ПИ варира између 300 и 500 базних парова [9]. Остаје да се испита да ли дужи фрагменти пореклом из ПИ повећавају сензитивност генетичког тестирања из овог извора течне биопсије.

Поред циркулишућих нуклеинских киселина, из ПИ је могуће изоловати и мале екстрацелуларне везикуле уз помоћ различитих метода. Оне су препознатљиве по томе што могу садржати ДНК, информационе РНК, микро РНК, дуге некодирајуће РНК, рецепторе, транскрипционе факторе, ензиме, протеине, липиде, који служе као средства комуникације међу ћелијама [10]. Због целокупног садржаја, екстрацелуларне везикуле се сматрају обећавајућим биомаркерима у дијагностици канцера и прогнози болести.

Предмет докторске дисертације

Предмет ове докторске дисертације представља испитивање употребе ПИ као релевантног биолошког извора течне биопсије за молекуларно-генетичке анализе, пре свега мутација у гену за рецептор епидермалног фактора раста (*енг. Epidermal growth factor receptor – EGFR*), са посебним акцентом на детекцију резистентне *EGFR T790M* мутације код пацијената који су прогредирали током терапије првом и другом генерацијом *EGFR* тирозин-киназних инхибитора. Затим ће се радити изолација и карактеризација малих екстрацелуларних везикула из ПИ помоћу три различите методе за изолацију истих, да би се утврдило да ли се све три методе могу користити за изолацију малих екстрацелуларних везикула, која од метода даје најбољи квалитет, чистоћу и принос изолованих везикула, као и која је цена и време потребно за изолацију истих у циљу потенцијалне примене у свакодневной клиничкој пракси. Потом ће се код 12 пацијената са узнапредовалим аденокарциномом плућа, који ће бити праћени и узорковани више пута

пункцијом ПИ у току терапије, изоловати мале екстрацелуларне везикуле у циљу испитивања њиховог протеинског састава и употребе тих протеина као потенцијалних биомаркера одговора на терапију (хемиотерапија, имунотерапија и терапија EGFR тирозин-киназним инхибиторима).

Предлог овог истраживања одобрен је од стране Етичког одбора Института за онкологију и радиологију Србије и сви пацијенти ће потписати информисани пристанак пре укључивања у исто. Узорци плеуралног излива који ће бити коришћени за спровођење дела истраживања из области протеомике у оквиру ове докторске дисертације (12 пацијената) биће обезбеђени са Универзитетског клиничког центра Србије у сарадњи са клиничарем др Андрејем Зечевићем, део су његове докторске дисертације која за циљ има друга научна испитивања, и за исту сарадњу постоји одобрење Етичког одбора Универзитетског клиничког центра Србије.

Научни циљ истраживања

Ради дефинисања научних циљева истраживања пошло се од основних хипотеза:

- Плеурални излив је једнако добар, а у неким случајевима и бољи извор течне биопсије од узорака крвне плазме за изоловање циркулишуће туморске ДНК и молекуларно-генетичко тестирање на присуство мутација у *EGFR* гену (посебно резистентне *EGFR* T790M мутације) пацијената са узнапредовалим аденокарциномом плућа који су прогредирани током терапије првом и другом генерацијом EGFR тирозин-киназних инхибитора.
- Све три методе за изолацију малих екстрацелуларних везикула могу наћи примену у изолацији истих из узорака плеуралног излива (ултрацентрифугирање, хроматографска метода, комерцијални кит Plasma/Serum Exosome Purification and RNA Isolation Mini Kit (Norgen Biotek)), а једна од ових метода ће се показати као најефикаснија и са највећом употребном вредношћу у свакодневној дијагностичкој пракси.
- Пошто се мале екстрацелуларне везикуле секретују из живих туморских ћелија, очекује се да је могуће уочити неке од механизма резистенције на терапију на основу различитог састава протеина изолованих из малих екстрацелуларних везикула пореклом из плеуралних излива сакупљаних од пацијената са узнапредовалим аденокарциномом плућа током трајања терапије и њихова употреба као потенцијалних биомаркера резистенције на терапију хемиотерапеутицима, имунотерапијом и терапијом EGFR тирозин-киназним инхибиторима.

Тако дефинисани научни циљеви докторске дисертације су:

- Испитивање сензитивности детекције мутација у *EGFR* гену из узорака крвне плазме и плеуралног излива код пацијената са узнапредовалим аденокарциномом плућа који су прогредирани током терапије првом и другом

- генерацијом EGFR тирозин-киназних инхибитора.
- Изоловање и карактеризација малих екстрацелуларних везикула из плеуралног излива пацијената са узнапредовалим аденокарциномом плућа применом три методе: ултрацентрифугирање, хроматографска метода, комерцијални кит Plasma/Serum Exosome Purification and RNA Isolation Mini Kit (Norgen Biotek) и поређење ефикасности ових метода.
 - Изоловање малих екстрацелуларних везикула из плеуралног излива пацијената са узнапредовалим аденокарциномом плућа најефикаснијом од наведене три методе за њихову изолацију, где ће узорци плеуралног излива бити сакупљени пре почетка и у току трајања терапије. Затим ће се из везикула изоловати протеини који ће бити карактерисани методом масене спектрометрије купловане са течном хроматографијом, где ће након биоинформатичке обраде података бити окарактерисани протеини малих екстрацелуларних везикула као потенцијални биомаркери одговора на терапију.

Материјал и методи који се користе

- Прикупљање узорака периферне крви и плеуралног излива пацијената са примарним аденокарциномом плућа (стадијум IIIb/IV, ECOG перформанс статус 0, 1, 2) кавкаског порекла. За EGFR генетичко тестирање планирано је прикупљање узорака крви 211 пацијената на дијагнози, као и 301 пацијента на прогресији (прогресија на EGFR тирозин-киназним инхибиторима прве и друге генерације). Такође, за потребе EGFR генетичког тестирања пацијената на прогресији, биће сакупљени узорци плеуралног излива 18 пацијената. За потребе изолације малих екстрацелуларних везикула из плеуралног излива, биће сакупљени узорци 5 пацијената, док ће за потребе протеомике бити прикупљени узорци плеуралног излива још 12 пацијената.
- Изолација циркулишуће ДНК из узорака крвне плазме и плеуралног излива комерцијалним китовима Cobas® cfDNA Sample Preparation Kit и QIAamp® MinElute® ccfDNA Mini Kit.
- Детекција EGFR мутација комерцијалним китом Cobas® EGFR Mutation Test v2, TaqMan пробама HS000000029_rm HS000000026_rm за EGFR p.T790M и p.L858R мутације, респективно, на Real-Time PCR апарату Cobas® 4800 (Roche Diagnostics) и dPCR апарату Applied Biosystems Quant Studio Absolute Q Digital PCR System (Thermo Fisher Scientific).
- Изолација малих екстрацелуларних везикула ултрацентрифугирањем, хроматографском методом базираном на метакрилатном кополимеру и комерцијалним китом Plasma/Serum Exosome Purification and RNA Isolation Mini Kit (Norgen Biotek).
- Доказивање присуства малих екстрацелуларних везикула биће урађено методама

проточне цитометрије, скенирајућом електронском микроскопијом, трансмисионом електронском микроскопијом. Дијаметар и број изолованих везикула биће одређен методом праћења наночестица (енгл. Nanoparticle Tracking Analysis), док чистоћа изолованих везикула одредити на основу односа измерених концентрација протеина (бицинхонинска метода) и липида (колориметријски сулфофосфованилин тест).

- За потребе анализе протеина изолованих из малих екстрацелуларних везикула биће коришћена метода течне хроматографије купловане са тандемском масеном спектрометријом.
- Обрада резултата у статистичким програмима GraphPad Prism 8, IBM SPSS Statistics v20, онлајн калкулаторима SciStatCalc и GraphPad by Dotmatics, као и додатним софтверским пакетима за обраду резултата масене спектрометрије и анализу сигналних путева (MaxQuant Perseus, Metascape, ROCplotter).

Очекивани резултати и научни допринос

- Плеурални излив ће у односу на узорке крвне плазме пацијената са узрапредовалим аденокарциномом плућа показати већу сензитивност детекције мутација у *EGFR* гену, посебно резистентне T790M мутације, и самим тим повећати број пацијената који ће после прогресије на EGFR тирозин-киназне инхибиторе прве и друге генерације бити третирани осимертинибом, EGFR тирозин-киназним инхибитором треће генерације, који доприноси продужењу укупног преживљавања пацијената.
- Мале екстрацелуларне везикуле ће успешно бити изоловане уз помоћ све три методе, с тим да ће једна метода због количине, чистоће и квалитета изолованих везикула, као и ниже цене и краћег времена потребног за изолацију истих, бити изабрана за потенцијалну примену у клиничкој пракси.
- Очекује се да ће након вишеструког пунктирања пацијената пре и у току терапије, после изоловања малих екстрацелуларних везикула из узорака ПИ и изоловања и карактеризације везикуларних протеина, а након биоинформатичке обраде података, бити откривени протеини малих екстрацелуларних везикула са функцијом потенцијалних биомаркера одговора на терапију (хемиотерапију, имунотерапију и терапију EGFR тирозин-киназним инхибиторима).

Најважнији литературни подаци који подржавају тему

- [1] H. Sung *et al.*, “Global Cancer Statistics 2020: GLOBOCAN Estimates of Incidence and Mortality Worldwide for 36 Cancers in 185 Countries,” *CA. Cancer J. Clin.*, vol. 71, no. 3, pp. 209–249, 2021, doi: 10.3322/caac.21660.
- [2] M. Cavic *et al.*, “Lung Cancer in Serbia,” *J. Thorac. Oncol.*, vol. 17, no. 7, pp. 867–872, 2022, doi: 10.1016/j.jtho.2022.04.010.

- [3] S.-H. I. Ou, M. Nagasaka, and V. W. Zhu, “Liquid Biopsy to Identify Actionable Genomic Alterations,” *Am. Soc. Clin. Oncol. Educ. B.*, no. 38, pp. 978–997, 2018, doi: 10.1200/edbk_199765.
- [4] C. Alix-Panabières and K. Pantel, “Liquid biopsy: From discovery to clinical application,” *Cancer Discov.*, vol. 11, no. 4, pp. 858–873, 2021, doi: 10.1158/2159-8290.CD-20-1311.
- [5] M. E. Froudarakis, “Pleural effusion in lung cancer: More questions than answers,” *Respiration*, vol. 83, no. 5, pp. 367–376, 2012, doi: 10.1159/000338169.
- [6] M. A. Sorolla, A. Sorolla, E. Parisi, A. Salud, and J. M. Porcel, “Diving into the pleural fluid: Liquid biopsy for metastatic malignant pleural effusions,” *Cancers (Basel)*., vol. 13, no. 11, pp. 1–25, 2021, doi: 10.3390/cancers13112798.
- [7] M. S. Shojaee, S. Roy-Chowdhuri, J. Safi, and H. B. Grosu, “Cytologic Investigations for the Diagnosis of Malignant Pleural Effusion in Non–small Cell Lung Cancer: State-of-the-art Review for Pulmonologists.,” *J. Bronchology Interv. Pulmonol.*, vol. 28, no. 4, p. p 310-321, 2021, doi: 10.1097/LBR.0000000000000789.
- [8] A. Mokánszki, E. S. Bádon, A. Mónus, L. Tóth, N. Bittner, and G. Méhes, “Cell-free DNA From Pleural Effusion Samples: Is It Right for Molecular Testing in Lung Adenocarcinoma?,” *Pathol. Oncol. Res.*, vol. 27, Mar. 2021, doi: 10.3389/PORE.2021.613071.
- [9] S. Yu, Y., Qian, J., Shen, L., Ji, and W., Lu, “Distinct profile of cell-free DNA in malignant pleural effusion of non-small cell lung cancer and its impact on clinical genetic testing.,” *Int. J. Med. Sci.*, vol. 18, no. 6, pp. 1510–1518, 2021, doi: 10.7150/ijms.52306.
- [10] A. Becker, B. K. Thakur, J. M. Weiss, H. S. Kim, H. Peinado, and D. Lyden, “Extracellular Vesicles in Cancer: Cell-to-Cell Mediators of Metastasis,” *Cancer Cell*, vol. 30, no. 6, pp. 836–848, 2016, doi: 10.1016/j.ccell.2016.10.009.

Г. Закључак и предлог:

На основу анализе приложене документације, Комисија сматра да је предложена тема докторске дисертације **„Значај течне биопсије у дијагностици, прогнози и предвиђању одговора на терапију код пацијената са карциномом плућа“** кандидата **Миодрага Љ. Вуковића** значајна и актуелна, и да у потпуности испуњава услове за оригиналан научни допринос у истраживањима која се односе на испитивање потенцијала примене течне биопсије у клиничкој пракси у карциному плућа. Резултати ове докторске дисертације допринели би прецизнијем утврђивању сложених механизма који утичу на ефикасност лечења тирозин-киназним инхибиторима, што би у будућности било од непроцењивог значаја у минимално инвазивној дијагностици, као и лечењу пацијената оболелих од карцинома плућа.

Досадашњи научни рад кандидата Миодрага Вуковића, као и актуелност предложене теме, представљају реалну основу да ће истраживање бити извршено компетентно и на савремен начин.

На основу свега наведеног Комисија једногласно закључује да су, поред законских, испуњени и сви остали услови и предлаже Наставно-научном већу Биолошког факултета Универзитета у Београду да кандидату **Миодрагу Љ. Вуковићу** одобри израду докторске дисертације под измењеним насловом **„Значај течне биопсије у дијагностици, прогнози и предвиђању одговора на терапију код пацијената са карциномом плућа“**. За менторе израде дисертације предлажу се др Милена Чавић, научни саветник Института за онкологију и радиологију Србије и др Александра Кораћ, редовни професор Универзитета у Београду-Биолошки факултет.

Београд, 28. мај 2024. год.

Комисија:

Др Милена Чавић, научни саветник
Институт за онкологију и радиологију Србије

Др Александра Кораћ, редовни професор
Универзитет у Београду-Биолошки факултет

Др Милица Поповић, ванредни професор
Универзитет у Београду-Хемијски факултет

Бр. 011/2024/965
29 MAR 2024

Miodrag Vuković

Odluka Etičkog odbora

Molba za odobrenje sprovođenja istraživanja pod nazivom "Ispitivanje značaja tečne biopsije u dijagnostici, prognozi i predviđanju odgovora na terapiju kod pacijenata sa karcinomom pluća" – Miodrag Vuković

Podneta dokumenta :

1. Molba
2. Informisani pristanak

Etički odbor je na 13/2024 elektronskoj sednici održanoj 27.03.2024. godine jednoglasno usvojio molbu za odobrenje izvođenja istraživanja pod nazivom "Ispitivanje značaja tečne biopsije u dijagnostici, prognozi i predviđanju odgovora na terapiju kod pacijenata sa karcinomom pluća" u Institutu za onkologiju i radiologiju Srbije (odobrenje/povoljno mišljenje).

Ovaj Etički odbor radi prema pravilima dobre kliničke prakse (GCP).

Etički odbor smatra da su prava, sigurnost i fizički i mentalni integritet subjekata koji učestvuju u istraživanju "Ispitivanje značaja tečne biopsije u dijagnostici, prognozi i predviđanju odgovora na terapiju kod pacijenata sa karcinomom pluća" potpuno zaštićena.

Sednici prisustvuju: NS Prim. dr sci. med. Suzana Matković, NS Prim. dr sci. med. Ljiljana Stamatović, Dr Vladimir Urban, NS. Mr. ph Svetlana Barjaktarević, Dr sci. med. Aleksandar Martinović.

Beograd, 22.03.2024.

Predsednik Etičkog odbora

NS.Prim. dr sci. med. Suzana Matković



Suzana Matković



КЛИНИЧКИ ЦЕНТАР СРБИЈЕ

11000 БЕОГРАД; ПАСТЕРОВА 2,
РЕПУБЛИКА СРБИЈА

ЕТИЧКИ ОДБОР

11000 Београд, Пастерова 2
011 366 2080, 264 4850, Факс 011 306-7180

Република Србија
Универзитетско клинички центар Србије

02. 12. 2022.		
3780	/	3

Број: 1100/8

Дана: 25.11.2022. године

На основу Закона о здравственој заштити Републике Србије („Сл. гласник РС“ бр. 25/2019), Закона о правима пацијената („Сл. гласник РС“, бр. 45/13), Закона о заштити података о личности („Сл. гласник РС“, бр. 97/2008, 104/2009, идр. Закон), Закона о здравственој документацији и евиденцијама у области здравства („Сл. гласник РС“, бр. „, бр. 123/2014, 106/2015, 105/2017), поступајући у складу са одредбама Етичког одбора Универзитетског клиничког центра Србије бр. 175/9 од 29.04.2021. године, Етички одбор Универзитетског клиничког центра Србије у саставу: Проф. др Андрија Богдановић- председник, Проф. др Бранислава Миленковић, Проф. др Бранислава Ивановић, Проф. др Александра Перић-Попадић, Доц. др Данијел Галун, Проф. др Милош Кораћ и Проф. др Милан Латас –лекари специјалисти запослени у Универзитетском клиничком центру Србије, одлучујући о захтеву Др Андреја Зечевића, на својој 22. седници одржаној дана 25.11.2022. године, донео је следећу

ОДЛУКУ

Одобрава се спровође клиничког испитивања под називом: “Праћење тока болести код пацијената са неситноћелијским карциномом плућа и плеуралним изливом, редовним праћењем нивоа цфДНК у плеуралном пунктату”.

Главни истраживач је Др Андреј Зечевић.

Чланови истраживачког тима су: Др Андреј Зечевић, Асист. др Бранислав Илић, Доц. др Спасоје Попевић, Асист. др Ивана Буха, Др Анка Поштић и Др Ана Ратковић.

Истраживачи сарадници су: Др Миљана Танић, Др Јелена Граховац и Др Огњен Милићевић.

Испитивање ће бити спроведено на Клиници за пулмологију Универзитетског клиничког центра Србије у сарадњи са: Институтом за онкологију и радиологију Србије (Одељење експерименталне онкологије) и Институтом за медицинску статистику и информатику Медицинског факултета у Београду.

Приликом доношења ове одлуке, Етички одбор је разматрао следећу документацију:

- 1). Захтев за одобрење академског клиничког испитивања поднет Етичком одбору УКЦС,
- 2). Протокол испитивања/синопис,
- 3). Информације за пацијента са обрасцем за давање писаног пристанка,
- 4). Тест листа,
- 5). Сагласност колегијума Клинике за пулмологију УКЦС бр. 3780/2 од 07.11.2022. године и
- 6). Биографија главног истраживача.

ПРЕДСЕДНИК ЕТИЧКОГ ОДБОРА
Проф. др Андрија Богдановић

