

**НАСТАВНО НАУЧНОМ ВЕЋУ МЕДИЦИНСКОГ ФАКУЛТЕТА  
УНИВЕРЗИТЕТА У БЕОГРДУ**

На седници **Наставно-научног већа** Медицинског факултета у Београду, одржаној дана 17.03.2026. године, број 7/XIV/-3/3-ЈБ, именована је комисија за оцену завршене докторске дисертације под насловом:

**„Анализа предиктивног значаја промена у метаболизму сфинголипида код пацијената са локално узнапредовалим карциномом ректума“**

кандидата Јасне Бјелановић, запослене у Центру за медицинску биохемију  
Универзитетског клиничког центра Србије у Београду.

Име и презиме ментора	Звање	Научна област	Установа у којој је запослен
др Горан Баришић	Професор	Хирургија	МФУБ
др Сандра Драгичевић	Виши научни сарадник	Молекуларна биологија	ИМГТИ

Комисија за оцену завршене докторске дисертације именована је у саставу:

Име и презиме члана комисије	Звање	Научна област	Установа у којој је запослен
др Ана Савић- Радојевић	Професор	Медицинска биохемија	МФУБ
др Александра Николић	Научни саветник	Молекуларна биологија	ИМГТИ
др Татјана Цветковић	Професор	Медицинска биохемија	МФ Ниш

На основу анализе приложене докторске дисертације, комисија за оцену завршене докторске дисертације једногласно подноси Научном већу Медицинског факултета следећи

**ИЗВЕШТАЈ**

**А) Приказ садржаја докторске дисертације**

Докторска дисертација Јасне Бјелановић написана је на укупно 62 стране и подељена је на следећа поглавља: увод, циљеви рада, материјал и методе, резултати, дискусија, закључци и литература. У дисертацији се налази укупно 12 табела, 11 графикана и 7 слика, које су оригинални рад аутора. Докторска дисертација садржи сажетак на српском

и енглеском језику, биографију кандидата, податке о комисији и списак скраћеница коришћених у тексту.

У **уводу** је јасно и прецизно приказана епидемиологија колоректалног карцинома (КРК), као и процес његове карциногенезе, уз детаљно разматрање фактора ризика за настанак ове болести. На адекватан начин представљени су и дијагностички протоколи и класификација КРК. Као циљна група истраживања посебно је издвојен и свеобухватно описан локално узнапредовали карцином ректума. Посебна пажња посвећена је улози биомаркера у свим фазама клиничке обраде пацијената са КРК, при чему је нагласак стављен на значај сфинголипида у физиолошким и патофизиолошким процесима. Нарочито се истиче улога церамида (ЦЕР), сфингомијелина (СМ) и ензима укључених у метаболизам сфинголипида у предикцији исхода лечења КРК.

**Циљеви рада** су прецизно дефинисани. Састоје се од одређивања концентрације церамида и сфингомијелина у серуму пацијента са локално узнапредовалим карциномом ректума пре и након примене неоадјуватне хемиоротирапије (нХРТ), као и киселе церамидазе (АС) у серуму и анализе нивоа експресије гена који кодира овај ензим, *ASAH1*, у ткиву тумора ректума. Један од циљева је и анализа апоптотског статуса туморског ткива и анализа повезаности учесника сфинголипидног метаболизма са клиничким карактеристикама пацијената са локално узнапредовалим карциномом ректума.

У поглављу **материјал и методе** је наведено да се ради о проспективној кохортној студији, која је спроведена на Клиници за дигестивну хирургију Универзитетског клиничког центра Србије. Детаљно је описан начин укључивања пацијената у студију, као и процедуре узорковања биолошког материјала за све анализе. Методе анализирања су детаљно описане, како за рутинске лабораторијске параметре, тако и за специјализоване методе, као што је примењена течна хроматографија спрегнута са масеном спектрометријом (LC-MS/MS). Описан је и начин процене апоптотског статуса ткива анализом експресије гена методом квантитативне ланчане реакције полимеразе у реалном времену (RT-PCR). У овом поглављу наведено је и анализирање јавно доступних транскриптомских података за карцином ректума.

У поглављу **резултати** детаљно су описани и јасно представљени сви добијени резултати.

**Дискусија** је написана јасно, логично и прегледно, пратећи структуру приказаних резултата, уз критичко повезивање налаза са релевантним истраживањима и упоредну анализу резултата ове докторске дисертације.

**Закључци** сажето приказују најважније налазе који су проистекли из резултата рада. Коришћена **литература** садржи списак од 150 референци.

### **Б) Провера оригиналности докторске дисертације**

На основу Правилника о поступку провере оригиналности докторских дисертација које се бране на Универзитету у Београду и налаза у извештају из програма iThenticate којим је извршена провера оригиналности ове докторске констатовано је да утврђено подударање текста износи 17 %. Овај степен подударности последица је општих места и података у вези са темом, као и претходно публикованих резултата истраживања у оквиру стратешког пројекта Српске академије наука и уметности, чији је део и ова докторска дисертација, као и коришћења и навођења исте литературе током писања дела увода. Све подударности су мање или једнаке од 1%, што јасно указује да су оне резултат употребе стандардних термина, а што је у складу са чланом 9. Правилника.

### **Ц) Кратак опис постигнутих резултата**

Просечна старост пацијената износила је  $63,5 \pm 11,0$  година, при чему је удео мушкараца био 63,6%. Код свих пацијената у тренутку постављања дијагнозе утврђен је клинички TNM стадијум III. Контролну групу чинили су здрави испитаници просечне старости  $45,9 \pm 11,1$  година, међу којима је 44,0% било мушког пола. Између испитиваних група није уочена статистички значајна разлика у полној структури ( $p=0,125$ ), док је разлика у старосној структури била статистички значајна ( $p<0,001$ ). Сви испитаници били су подвргнути истоветним лабораторијским анализама крви. У групи пацијената регистроване су статистички значајно више вредности леукоцита, еритроцита, тромбоцита, фибриногена, D-димера, глукозе, креатинина, LDL-холестерола, феритина, ALT, гвожђа, CRP, СЕА и Са 19-9 у поређењу са контролном групом ( $p<0,05$ ), док за остале анализирани параметре није утврђена статистички значајна разлика ( $p>0,05$ ).

Од укупног броја пацијената, 26 је подвргнуто неoadјувантној хеморадиотерапији (нХРТ) и укључено у даљу анализу, док су 4 пацијента, који су примили искључиво хемиотерапију, искључена из анализа након терапије. На основу патолошког одговора

тумора, пацијенти су класификовани у три подгрупе према ТРГ скали: са добрим (ТРГ1+ТРГ2), умереним (ТРГ3) и лошим терапијским одговором (ТРГ4+ТРГ5).

Нивои церамида и сфингомијелина одређени су у узорцима серума свих испитаника применом LC-MS/MS методе. Међу анализираним церамидима, највише вредности забележене су за ЦЕР Ц24, док је најзаступљенији сфингомијелин био СМ Ц16. Поређењем између пацијената и контролне групе утврђене су статистички значајне разлике за ЦЕР Ц18 ( $p=0,005$ ), ЦЕР Ц22 ( $p=0,005$ ), ЦЕР Ц24 ( $p<0,0005$ ), као и за СМ Ц18 ( $p=0,036$ ) и СМ Ц24 ( $p<0,001$ ). Код пацијената лечених нХРТ извршено је поређење нивоа сфинголипида у серуму пре и након терапије, при чему је статистички значајно смањење уочено једино за ЦЕР Ц18 ( $p=0,031$ ), док промене у нивоу сфингомијелина нису достигле статистичку значајност, упркос тренду повећања за СМ Ц24 ( $p>0,05$ ).

Од ензима укључених у метаболизам сфинголипида анализиран је ниво киселе церамидазе (АС) у серуму пацијената пре терапије, применом ELISA методе. Добијене вредности кретале су се у распону од 2,9 до 8,34 ng/mL, при чему није утврђена статистички значајна корелација између нивоа АС и концентрација церамида.

Релативна експресија гена *ASAH1* анализирана је у упареним узорцима туморског и нетуморског ткива. У узорцима прикупљеним пре терапије утврђена је статистички значајна разлика у експресији овог гена између туморског и околног ткива ( $p=0,004$ ). Код 70% пацијената забележена је смањена експресија (у опсегу 1,1–65 пута) у туморском ткиву у односу на нетуморско, док је код преосталих 30% испитаника уочена повећана експресија (1,3–24 пута).

Повезаност сфинголипида, нивоа АЦ и експресије гена *ASAH1* са тумор-маркерима и инфламаторним параметрима анализирана је код пацијената пре примене терапије. Инфламаторни статус процењен је на основу вредности CRP и CALLY индекса, израчунатог према формули: албумин  $\times$  апсолутни број лимфоцита / CRP  $\times$  10. Утврђена је статистички значајна позитивна корелација између СМ Ц18 и ЦРП ( $r=0,574$ ;  $p=0,032$ ), док је за СМ Ц24 и Са 19-9 уочен тренд позитивне корелације без достизања статистичке значајности ( $r=0,484$ ;  $p=0,057$ ).

Експресија проапоптотског гена *BAX* и антиапоптотског гена *BCL2* анализирана је у узорцима ткива прикупљеним пре и након терапије. Иако појединачне вредности експресије нису показале статистички значајне разлике ( $p=0,812$  за *BAX* и  $p=0,216$  за

*BCL2*), однос *BAX/BCL2* био је статистички значајно виши у туморском у односу на нетуморско ткиво ( $p=0,002$ ), указујући на израженији проапоптотски статус туморског ткива.

Корелациона анализа показала је статистички значајну позитивну повезаност између нивоа церамида ЦЕР Ц20, ЦЕР Ц22 и ЦЕР Ц24 и апоптотског статуса ( $r=0,619$ ;  $p=0,018$ ;  $r=0,694$ ;  $p=0,006$ ;  $r=0,601$ ;  $p=0,023$ ), док је за ниво АС утврђена статистички значајна негативна корелација са односом *BAX/BCL2* ( $r=-0,536$ ;  $p=0,002$ ). Није утврђена значајна повезаност између експресије гена *ASAH1* и апоптотског статуса туморског ткива. Анализа односа *BAX/BCL2* пре терапије указала је на тренд виших вредности код пацијената са умереним и лошим терапијским одговором, али без статистичке значајности ( $p=0,481$ ).

На крају, анализа потенцијалне предиктивне вредности сфинголипидних параметара и експресије гена *ASAH1* за одговор на неоадјувантну хеморадиотерапију није показала статистички значајну повезаност ни за један од испитиваних параметара ( $p>0,05$ ).

#### **Д) Упоредна анализа докторске дисертације са резултатима из литературе**

У досадашњим истраживањима анализирани су различити учесници метаболизма сфинголипида, укључујући церамиде и ензиме укључене у њихову синтезу, као и метаболите. Посебна пажња посвећена је ензиму киселој церамидази, која катализује хидролизу церамида и има значајну улогу у регулацији равнотеже између проапоптотских и пролиферативних сигналних путева. Међутим, већина наведених студија заснивала се на анализи хетерогених узорака туморског ткива колона и ректума, што је резултирало варијабилним и често контрадикторним налазима. Истовремено, у доступној литератури и даље постоји недостатак података о специфичној улози метаболизма сфинголипида у карциному ректума као засебном биолошком и клиничком ентитету.

Уочени нижи нивои церамида у серуму пацијената у односу на здраве испитанике нису у сагласности са раније објављеним резултатима (Separovic D и сар., 2017). Наиме, код пацијената са метастатским колоректалним карциномом забележене су више концентрације церамида и сфингомијелина у поређењу са контролном групом (Markowski AR и сар., 2020; Shen S и сар., 2017). Додатно, показано је постојање градијента активности алкалне сфингомијелиназе дуж колона ка ректуму, при чему

варијације у активности овог ензима доводе до различитог степена хидролизе сфингомијелина у церамид и фосфохолин, што последично утиче на нивое церамида. Такође, утврђено је да полипоидне лезије са високим малигним потенцијалом карактеришу снижене концентрације проапоптотског церамида и повишене концентрације про-пролиферативног S1P, док је супротан образац уочен код лезија са ниским малигним потенцијалом (Kurek K и сар., 2015).

Неуједначеност података у литератури о повезаности нивоа церамида и сфингомијелина са колоректалним карциномом додатно потврђују резултати *in vitro* студија. Наиме, ниже концентрације ових липида забележене су у ћелијској линији SW620 у односу на SW480 (Fhaner CJ и сар., 2012). Ћелијска линија SW480 потиче из примарног тумора колона, док је SW620 изведена као изогена метастатска линија из лимфног чвора истог пацијента, при чему је показано да SW480 поседује већи миграторни и инвазивни потенцијал у односу на SW620 (Leibovitz и сар., 1976; de Toledo M и сар., 2012). За разлику од наведених студија, у оквиру ове докторске дисертације анализирани су искључиво пацијенти са карциномом ректума без присутних метастаза у тренутку укључивања у студију. Поред тога, испитивани су нивои сфинголипидних молекула у серуму, имајући у виду да постоје значајне разлике у профилу сфинголипида између ткива и циркулације (Markowski AR и сар., 2020).

Ниво киселе церамидазе индиректно је процењен у узорцима ткива пацијената анализом експресије гена *ASAH1*, који кодира овај ензим. Анализа узорака прикупљених пре примене било какве терапије указала је на смањену експресију гена *ASAH1* у туморском ткиву. Сличан тренд уочен је и анализом TCGA-READ скупа података, који обухвата транскриптомске профиле примарних узорака ректалног аденокарцинома стадијума II–III. Претходна студија која је обједињавала податке за колон и ректум такође је указала на смањену експресију *ASAH1* у туморском ткиву (Jang SW и сар., 2018). Иако у Xena Browser платформи нису увек доступни урагани узорци, упркос разликама у методологији, платформама и потенцијалним варијацијама у стадијуму болести, конзистентно је уочен тренд редуковане експресије овог гена у туморском ткиву.

На основу добијених резултата на нивоу генске експресије, могло би се претпоставити да је и ниво AC снижен у туморском ткиву ректума, што је у супротности са ранијим налазима који указују на њену повишену експресију у колоректалном карциному (Espinoza KS и сар., 2024). Иако је експресија гена *ASAH1*, као индиректни показатељ

ткивног нивоа ензима, анализирана у односу на концентрацију киселе церамидазе у серуму, значајна корелација није утврђена. Овакав налаз може указивати на системско порекло циркулишуће форме ензима. У складу с тим, може се претпоставити да је регулација киселе церамидазе ткивно специфична и вишеслојна, укључујући транскрипционе и посттранскрипционе механизме, што може објаснити разлике у нивоу овог ензима између колона и ректума (Markowski AR и сар., 2023).

Улога метаболизма сфинголипида у одговору на нХРТ до сада је испитивана у ограниченом броју студија. У оквиру овог истраживања нису уочене значајне разлике у нивоима компонената сфинголипидног метаболизма између пацијената са различитим терапијским одговором. С друге стране, *in vitro* студије указују да је развој резистенције ћелија колона DLD-1 на 5-флуороурацил (5-FU) повезан са повећањем нивоа сфингомијелина и смањењем нивоа церамида (Клобуџар М и сар., 2018). Такође, показано је да резистентне ћелијске линије колона, као што су HT29 и Сасо-2, карактерише повишена експресија ензима укључених у конверзију церамида у гликосфинголипиде (García-Barros и сар., 2014).

#### **Е) Објављени радови који чине део докторске дисертације**

1. Bjelanovic J, Nikolic A, Aslan M, Miladinov M, Kotur N, Barisic G, Dragicevic S. Altered levels of sphingolipid metabolites in serum of locally advanced rectal cancer patients: A pilot study. *J Med Biochem.* 2025 Jun 13; 44(3):524-533. doi: 10.5937/jomb0-55113. M23 ИФ: 2.0
2. Bjelanovic J, Zeljic K, Miladinov M, Barisic G, Dragicevic S. Acid ceramidase expression and biomarker potential in patients with locally advanced rectal cancer. *Biomol Biomed.* 2025 Nov 28; 26(6):924-932. doi: 10.17305/bb.2025.13275. M22 ИФ: 2.2
3. Bjelanovic J, Barisic G, Dragicevic S. Tradicionalni i novi prediktivni biomarkeri u razlicitim stadijumima karcinoma rektuma. *Medicinski podmladak.* 2026 doi: 10.5937/mp80-62844 M52

#### **Ф) Одлуке Етичке комисије Факултета и остале неопходне етичке одлуке**

Истраживање за докторску дисертацију Јасне Бјелановић је спроведено уз сагласност Етичке Комисије Медицинског факултета Универзитета у Београду од дана 29.06.2023. године под бројем: 17/VI-7 и Етичким одбором здравствене установе Универзитетског клиничког центра Србије дана 19.10.2021. године, под бројем: 447/6.

### **Г) Закључак (образложење научног доприноса)**

Докторска дисертација „Анализа предиктивног значаја промена у метаболизму сфинголипида код пацијената са локално узрапредовалим карциномом ректума“ Јасне Бјелановић, као први овакав рад у нашој популацији представља оригинални научни допринос у разумевању улоге сфинголипида у патогенези КРК, прогресији болести и одговору на премењену терапију. Највећи значај ове докторске дисертације произилази из чињенице да је истраживачки фокус доследно ограничен на локално узрапредовали карцином ректума, за разлику од претходних студија у којима су анализе метаболизма сфинголипида најчешће обухватале карцином колона или хетерогене узорке ткива колона и ректума. Оваква концепција истраживања омогућила је прецизније разматрање специфичности сфинголипидног метаболизма у ректуму као засебној анатомској и клиничкој целини, чиме се доприноси продубљивању постојећих сазнања у овој области.

Ова докторска дисертација је урађена према свим принципима научног истраживања. Циљеви су прецизно дефинисани, научни приступ је оригиналан и пажљиво изабран, а методологија рада је савремена. Резултати су прегледно и систематично приказани и дискутовани, а из њих су изведени одговарајући закључци.

На основу свега наведеног, и имајући у виду досадашњи научни рад кандидата, комисија предлаже Научном већу Медицинског факултета Универзитета у Београду да прихвати докторску дисертацију Јасне Бјелановић и одобри њену јавну одбрану ради стицања академске титуле доктора медицинских наука.

У Београду, 20.04.2026.

Чланови Комисије:

Проф. др Ана Савић- Радојевић

---

Ментор:

Проф. Др Горан Баришић

---

Др Александра Николић

---

Др Сандра Драгичевић

---

Проф. др Татјана Цветковић

---