

НАСТАВНО-НАУЧНОМ ВЕЋУ ФАРМАЦЕУТСКОГ ФАКУЛТЕТА УНИВЕРЗИТЕТА У БЕОГРАДУ

На седници Наставно-научног већа Фармацеутског факултета, одржаној 10.09.2026. године, именована је Комисија за оцену завршене докторске дисертације под називом „Гликобиохемијска карактеризација молекулских образаца који садрже гама-глутамил трансферазу у екстрацелуларним везикулама и солубилном субпротеому семене плазме човека“ кандидата магистра фармације-медицинског биохемичара Тамаре Јанковић, докторанда на Катедри за медицинску биохемију Фармацеутског факултета Универзитета у Београду, у саставу:

1. Др сц. Јелена Векић, редовни професор, Универзитет у Београду – Фармацеутски факултет, ужа научна област: Медицинска биохемија
2. Др сц. Сања Гоч, научни сарадник, Универзитет у Београду – Институт за примену нуклеарне енергије-ИНЕП, ужа научна област: Гликобиологија
3. Др сц. Бато Кораћ, научни саветник, Универзитет у Београду – Институт за биолошка истраживања „Синиша Станковић“, Институт од националног значаја за Републику Србију, ужа научна област: Молекуларна биологија

Ментори:

1. Др сц. Александра Зељковић, редовни професор, Универзитет у Београду - Фармацеутски факултет, ужа научна област: Медицинска биохемија
2. Др сц. Мирослава Јанковић, научни саветник, Универзитет у Београду - Институт за примену нуклеарне енергије-ИНЕП, ужа научна област: Гликобиологија

Чланови Комисије су прегледали приложену дисертацију и подносе Наставно-научном већу Фармацеутског факултета Универзитета у Београду следећи:

ИЗВЕШТАЈ

А. Садржај докторске дисертације

Докторска дисертација је написана на 68 страна и садржи: 7 табела, 25 слика и 189 литературних навода. Садржај је подељен по поглављима: Увод, Циљеви истраживања, Материјал и методе, Резултати, Дискусија, Закључци и Литература.

Поглавље **Увод** се састоји од два дела. Први део Увода је посвећен гама-глутамил траснфери (ГГТ). Описана је њена ензимска и биолошка активност, као и организација и експресија ГГТ гена човека. Поред овога, описана је синтеза и матурација ГГТ молекула, као и њене структурне карактеристике. Посебна пажња је посвећена гликозилацији

молекула ГГТ која варира у различитим ткивима и у различитим патолошким стањима. У вези са структурном хетерогеношћу, детаљно су описане молекулске форме ГГТ присутне у биолошким течностима: велика ГГТ (*big-GGT*, *b-GGT*), средња (*medium-GGT*, *m-GGT*), мала ГГТ (*small-GGT*, *s-GGT*) и слободна ГГТ (*free-GGT*, *f-GGT*). Поред структурних карактеристика, посебно је размотрен биомаркерски потенцијал одређивања молекулских форми ГГТ, као и њена могућа примена ван оквира класичне хепатологије. Посебан део је обухватио карактеристике ГГТ из семене плазме (СП) човека, њено могуће порекло, биолошку улогу и дијагностички потенцијал у репродукцији човека.

У другом делу Увода, дат је преглед основних карактеристика екстрацелуларних везикула (ЕВ), њихова класификација и биогенеза. Посебно је описана мембрана ЕВ у погледу њеног специфичног састава и организације липида и протеина. Затим су детаљно описани мембрански протеини који су препознати као канонски површински маркери ЕВ: тетраспанини (ТС), ензими, галектини, као и гликани, тј. гликозилација ЕВ. Поред података о мембрани ЕВ, описан је и њихов интравезикуларни садржај као и механизми његовог сортирања. Приказан је биомаркерски потенцијал ЕВ, концепт течне биопсије и примена ЕВ у *in vitro* дијагностици. Посебан део приказа ЕВ се односио на ЕВ из СП које су познате под називом простазоми, са освртом на њихов специфичан састав и организацију мембране.

У поглављу **Циљеви**, јасно су дефинисани предмет истраживања као и главни и специфични циљеви истраживања. Основни циљ докторске дисертације био је да се, на основу гликобиохемијске карактеризације молекулских образаца који садрже ГГТ у СП човека, дефинишу референтни параметри за анотацију њених молекулских форми. Да би се испунио главни задати циљ, експериментални део рада је подељен у две целине. Прва целина односила се на испитивање специфичности презентације *b*-ГГТ на популацијама ЕВ из нормоспермичних и олигоспермичних узорака СП човека на основу расподеле: ГГТ активности, селектованих типова гликана и ТС, као и галектина-3 (Гал-3). Поред презентације, испитивана је и дистрибуција *b*-ГГТ на мембранским доменима ЕВ који су отпорни / осетљиви на дејство детерцента, на основу праћења промена ГГТ активности, одабраних ТС и Гал-3.

Друга целина се односила на утврђивање профила молекулских форми ГГТ у солубилном субпротеому СП човека и обухватила је карактеризацију молекулских образаца који садрже солубилне ГГТ форме велике молекулске масе на основу ко-дистрибуције ГГТ активности и селектованих типова гликана / гликопротеина.

Утврђивање разлика између анотираних ГГТ форми велике молекулске масе из нормоспермичних и олигоспермичних узорака СП је вршено у циљу увида у њихов биомаркерски потенцијал.

У поглављу **Материјал и методе** описане су карактеристике испитиваних узорака СП, као и лабораторијске методе које су коришћене у истраживању. Истраживање је

одобрено од стране Етичке комисије Института за примену нуклеарне енергије-ИНЕП (број одлуке 02-1462/2) од 14.12.2021. године и Етичког комитета за биомедицинска истраживања Фармацеутског факултета, Универзитета у Београду (број одлуке 2001/3) од 09.09.2022. године. Истраживање је вршено на узорцима СП човека која је издвојена из анонимизованих узорака семене течности преостале након рутинске анализе спермограма / спермоцитограма у Лабораторији за испитивање, Института за примену нуклеарне енергије-ИНЕП, Земун, Београд. Узорци СП су дефинисани као нормоспермични или олигоспермични према критеријумима Светске здравствене организације, објављеним 2021. године. Анализа је вршена на по два пула узорака СП нормоспермичних и олигоспермичних особа који су формирани од по 10 појединачних узорака.

Фракција обогата ЕВ и фракција солубилног субпротеома СП су издвојене диференцијалним центрифугирањем СП. ЕВ су изоловане и пречишћене методом гел филтрације на *Sephadex* G200 колони. Лектинска афинитетна хроматографија (ЛАХ) на колони са имобилисаним лектином: конканавалином А (*Con A*) или лектином из пшеничних клица (*WGA, wheat germ agglutinin*) је коришћена за изоловање ЕВ популација: неvezане популације ЕВ, као и популације ЕВ коју је везао лектин и која је елуирана раствором компетитивног шећера. ЕВ су солубилизоване помоћу Тритона X-100, а раздвајање мембранских домена који су отпорни на дејство детерџента и солубилизованог материјала је вршено методом гел филтрације на колони *Sephadex* G200.

Величина и изглед нативних и солубилизованих ЕВ су анализирани трансмисионом електронском микроскопијом. Експресија ТС (*CD63, CD9, CD81*) и гал-3 је испитана коришћењем имуно блота и имуно дот-блота. Активност ГГТ је одређена стандардном кинетичком методом на аутоматском биохемијском анализатору. Натријум-додецил-сулфат-полиакриламидна гел електрофореза (*SDS-PAGE*) је коришћена за анализу протеинског садржаја ЕВ, а методом гасне хроматографије са пламено-јонизационим детектором анализиран је садржај нехолестеролских стерола.

Дистрибуција ГГТ у солубилном субпротеому СП је анализирана методом гел филтрације на *Sephadex* G200 и *Sepharose* 2В колонама. Елуција ГГТ је праћена мерењем укупне ензимске активности (истом методом којом су анализирани нативне и солубилизоване ЕВ) а елуција *Con A*- и *WGA*-реактивних гликопротеина методом лектинског блота и тестом везивања лектина на чврстој фази. Елуција муцина је праћена одређивањем концентрације *CA19-9* и *CA125* антигена помоћу комерцијалних есеја.

Поглавље **Резултати** састоји се из три дела. У првом делу је приказана гликобиохемијска карактеризација молекулских образаца који садрже ГГТ у ЕВ из СП. У уводном делу приказани су резултати фракционисања и изоловања ЕВ из СП, и детаљно су описане карактеристике изолата ЕВ из нормоспермичних (ЕВ-Н) и олигоспермичних узорака (ЕВ-О) СП. У централном делу овог поглавља приказани су резултати добијени испитивањем презентације и дистрибуције *b*-ГГТ на мембрани ЕВ-Н и ЕВ-О. Најпре су

приказани резултати гликобиохемијске карактеризације молекулског обрасца који садржи *b*-ГГТ на мембрани ЕВ-Н и ЕВ-О популација које су раздвојене на основу реактивности са изабраним лектинима коришћењем ЛАХ. Затим су приказани резултати гликобиохемијске карактеризације молекулског обрасца који садржи *b*-ГГТ на одговарајућем мембранском домену ЕВ-Н и ЕВ-О, након солубилизације ЕВ и фракционисања домена који су отпорни на дејство детерџента коришћењем гел филтрације. Резултати испитивања презентације и дистрибуције *b*-ГГТ на мембрани ЕВ-Н и ЕВ-О су се односили на анализу присуства / редистрибуције укупних *Con A*- и *WGA*-реактивних мембранских гликана, изабраних канонских ЕВ маркера: ТС (*CD63*, *CD9*, *CD81*) и Гал-3.

Други део **Резултата** односио се на гликобиохемијску карактеризацију молекулских образаца који садрже ГГТ у солубилном субпротеому нормоспермичних узорака СП (сол П-Н) и олигоспермичних узорака СП (сол П-О). Приказани су резултати дистрибуције ГГТ у солубилном субпротеому СП добијени гел филтрацијом на *Sephadex G200* и *Sepharose 2B* колони. Након тога, приказана је анализа протеинског и гликопротеинског профила фракција који садрже солубилне молекулске форме ГГТ које су анотирани на основу присуства *Con A*- и *WGA*-реактивних мембранских гликана и муцинских антигена *CA19-9* и *CA125*.

У трећем делу **Резултата** приказана је рекапитулација анализе молекулских образаца који садрже ГГТ у ЕВ и сол-П СП, као и установљени референтни параметри. Затим је приказано поређење анотираних молекулских форми ГГТ нормоспермичних и олигоспермичних узорака СП.

На крају дисертације, дати су **Дискусија** и **Закључци** који произилазе из резултата истраживања и њихове анализе.

Б. Опис добијених резултата

ЕВ и сол П раздвојени су диференцијалним центрифугирањем пулова нормоспермичних и олигоспермичних узорака СП. У фракцији обогаћеној ЕВ, детектована је *b*-ГГТ код обе групе узорака. Фракција нормоспермичних узорака СП обогаћена ЕВ је садржала 2,4%, док је фракција олигоспермичних узорака СП обогаћена ЕВ садржала 5,0% укупне ензимске активности ГГТ у СП.

Анализа изолованих и пречишћених ЕВ из одговарајуће групе узорака, ЕВ-Н и ЕВ-О, је показала њихову сличност у погледу изгледа и величине (светле и тамне ЕВ, 50 - 150 *nm*), као и електрофоретског профила. Он је показао присуство бројних протеинских трака које су се делимично или потпуно преклапале у широком распону молекулских маса, укључујући три траке у региону 90 kDa – 150 kDa познате под називом простазомски потпис. Разлике између ЕВ-Н и ЕВ-О изолата су уочене у заступљености појединих нехолестеролских стерола (НХС). У ЕВ-Н дезмоesterol је био најзаступљенији НХС, док је код ЕВ-О то био β -ситостерол.

Резултати анализе хетерогености презентације *b*-ГГТ који су добијени ЛАХ су указали на разлике у контексту специфичних типова мембранских гликана на изолованим популацијама и ЕВ-Н и ЕВ-О.

Протеински профил и расподела површинских маркера се разликовала између ЕВ-Н популација које су раздвојене на *Con A* – *Sepharose* 4В колони. Популација ЕВ нормоспермичног узорка семене плазме коју не везује *Con A* (*Con A* - нЕВ-Н) садржала је везикуле хетерогеног изгледа, а био је присутан и аморфни материјал. Њихов протеински профил је одговарао профилу укупних ЕВ. *Con A* - нЕВ-Н су чиниле 77% од укупних ЕВ-Н и на њиховој површини су детектовани *CD63*, *CD81* и Гал-3. На основу ових резултата, закључено је да не долази до промене у испитиваним карактеристикама *Con A* - нЕВ-Н, тј. да оне одговарају карактеристикама укупних ЕВ-Н.

Популација ЕВ нормоспермичног узорка СП коју везује *Con A* (*Con A* - вЕВ-Н) садржала је униформне тамне везикуле које су показале *хало* ефекат, а аморфни материјал није био уочен. *Con A* - вЕВ-Н су чиниле 23% од укупних ЕВ-Н. На њиховој површини је детектован само *CD63*, а уочене су и промене у протеинском профилу карактеристичном за ЕВ. Поред тога, уочено је и знатно смањење (у односу на укупне ЕВ-Н) специфичне активности ГГТ. На основу ових резултата, закључено је да се *Con A* - вЕВ-Н разликују у свим испитиваним карактеристикама у односу на укупне ЕВ-Н.

Анализа ЕВ-Н популација које су раздвојене ЛАХ на *WGA* – *Sepharose* 4В колони је указала на сличност изгледа и протеинског профила популација ЕВ нормоспермичног узорка СП коју не везује *WGA* (*WGA* - нЕВ-Н) као и популација ЕВ нормоспермичног узорка СП коју везује *WGA* (*WGA* - вЕВ-Н) са укупним ЕВ-Н. *WGA* - нЕВ-Н су чиниле 62% од укупних ЕВ-Н и на њима су детектовани *CD63* и Гал-3 али не и *CD81*, а уочено је и смањење (у односу на укупне ЕВ-Н) специфичне активности ГГТ. *WGA* - вЕВ-Н су чиниле 38% од укупних ЕВ-Н. На њима је био присутан само *CD63*, а уочено је и смањење специфичне активности ГГТ.

Популација ЕВ олигоспермичног узорка СП коју не везује *Con A* (*Con A* - нЕВ-О) је чинила 66% од укупних ЕВ-О и садржала је везикуле хетерогеног изгледа, а детектован је и аморфни материјал. На основу резултата анализе њиховог протеинског профила, површинских маркера и специфичне активности ГГТ, установљено је да ове карактеристике одговарају карактеристикама укупних ЕВ-О, тј. да нису промењене.

Популација ЕВ олигоспермичног узорка СП коју везује *Con A* (*Con A* - вЕВ-О) је садржала униформне тамне везикуле које показују *хало* ефекат, а аморфни материјал није био присутан. Њихов протеински профил је био знатно промењен, укључујући промену у простазомском потпису, а на површини је детектован само *CD63*. Поред тога, детектовано је изражено смањење специфичне активности ГГТ. *Con A* - вЕВ-О су чиниле 34% од

укупних ЕВ-О, и оне су се разликовале у свим испитиваним карактеристикама у односу на укупне ЕВ-О.

Анализа ЕВ-О популација које су раздвојене ЛАХ на *WGA* – *Sephrose 4B* колони је указала на њихове сличности у погледу изгледа и протеинског профила као и на разлике у површинским маркерима у поређењу са укупним ЕВ-О. Популација ЕВ олигоспермичног узорка СП коју не везује *WGA* (*WGA* - нЕВ-О) су чиниле 57% од укупних ЕВ-О и на њима су детектовани *CD63*, *CD81* и Гал-3, а уочено је и смањење специфичне активности ГГТ. Популација ЕВ олигоспермичног узорка СП коју везује *WGA* (*WGA* - вЕВ-О) су чиниле 43% од укупних ЕВ-О и на њима је детектован само *CD63*, а уочено је и знатно смањење специфичне активности ГГТ.

Поређењем презентације *b*-ГГТ на мембрани ЕВ-Н и ЕВ-О популација, показано је да постоји међусобна разлика у контексту *WGA*-реактивних гликана. Она је обухватала специфичну активности ГГТ као и присуство појединих ТС и Гал-3 на површини одређених ЕВ популација. Конкретно, резултати анализе мембранских маркера ЕВ-Н коју не везује *WGA*, разликовали су се од ЕВ-О у погледу *CD81*-имунореактивности, док су резултати анализе мембранских маркера ЕВ-Н коју везује *WGA*, у односу на ЕВ-О, били различити у погледу ГГТ активности.

За разлику од *WGA*, није нађена разлика у презентацији *b*-ГГТ на мембрани ЕВ-Н и ЕВ-О популација у контексту *Con A*-реактивних гликана. У оба изолата су, међутим, уочене популације ЕВ које су реаговале са *Con A* и које су се разликовале од везикула које нису реаговале са *Con A* по свим испитиваним карактеристикама.

Хетерогеност дистрибуције *b*-ГГТ која подразумева њено присуство на различитим типовима мембранских домена ЕВ-Н и ЕВ-О је анализирана након солубилизације ЕВ и фракционисања домена који су отпорни на дејство детерџента коришћењем гел филтрације. Солубилизација ЕВ је вршена помоћу *TX-100* а праћена је на основу промена у изгледу везикула, њиховом протеинском саставу, тј. редистрибуцији селектованих молекула: *Con A*- и *WGA*-реактивних мембранских гликана, тетраспанина (*CD63*, *CD9*, *CD81*) и Гал-3.

Поређење елуционих профила нативних ЕВ-Н и солубилизованих ЕВ-Н на колони *Sephadex G200* показало је редистрибуцију ГГТ, *CD63*, као и *WGA*-реактивних мембранских гликана. За разлику од њих, тетраспанин *CD9* и Гал-3 су се, након солубилизације ЕВ-Н, искључиво елуирали на позицији мембранских домена отпорних на дејство детерџента. На овој позицији су се, такође, елуирали *Con A*-реактивни мембрански гликани, али је уочено смањење укупне лектинске реактивности у поређењу са нативним ЕВ-Н. Након солубилизације ЕВ-Н, *CD81* се није могао детектовати ни у једној фракцији.

Солубилизација ЕВ-О је довела до редистрибуције ГГТ, *CD63* и дела *WGA*-реактивних мембранских гликана. Укупни *Con A*-реактивни мембрански гликани су били смањени, али није дошло до њихове редистрибуције. Тетраспанин *CD9* и Гал-3 су се код

солубилизованих ЕВ-О елуирали на позицији мембранских домена отпорних на дејство детерцента али су се, за разлику од солубилизованих ЕВ-Н, њихови елуциони профили само делимично преклапали. Тетраспанин *CD81* се, након солубилизације ЕВ-О, није могао детектовати ни у једној фракцији, исто као код солубилизованих ЕВ-Н.

Анализа добијених резултата је указала да постоје значајне разлике у солубилизацији сваког ТС, као и њиховој повезаности са ГГТ и Гал-3. ГГТ се, највећим делом, солубилизује и раздваја као и *CD63* и *Con A*-реактивни гликани, док мањи део ГГТ и *WGA*-реактивних гликана као и *CD9* и Гал-3 остаје у доменима отпорним на дејство детерцента. На основу овога је утврђено да се молекулски образац који садржи *b*-ГГТ на мембранским доменима отпорним на дејство детерцента разликује између ЕВ-Н и ЕВ-О у контексту дистрибуције ЕВ маркера: *CD9* и Гал-3. Поред овога, није нађена разлика између ЕВ-Н и ЕВ-О у контексту дистрибуције *CD63* на мембранским доменима који су отпорни на дејство детерцента, као и на мембранским доменима који су осетљиви на дејство детерцента.

У солубилном субпротеому семене плазме, сол П, детектована је ГГТ активност. Сол П-Н је садржао 97,6%, док је сол П-О, садржао 94,9% укупне ензимске активности ГГТ. Елуциони профили ГГТ из сол П-Н и сол П-О, на колони *Sephadex G200*, су показали да се максимум ГГТ активности у оба узорка елуира на позицији блиској позицији *b*-ГГТ, а да се минорни део елуира на позицији *f*-ГГТ. Гел филтрација сол П-Н на колони *Sepharose 2B* је показала да се ГГТ активност елуира као два до три делимично раздвојена пика. Удео ГГТ пикова у укупној површини пикова елуиране ГГТ активности је износио: на позицији *b*-ГГТ (14,9%), *s*-ГГТ (52,8%) и *f*-ГГТ (32,3%). Гел филтрација сол П-О на колони *Sepharose 2B* је, слично као и сол П-Н, показала да се ГГТ елуира у широком опсегу маса, као два до три слабо раздвојена пика. Удео ГГТ пикова у укупној површини пикова елуиране ГГТ активности је износио: на позицији *b*-ГГТ (24,6%), *s*-ГГТ (42,5%) и *f*-ГГТ (32,9%).

Дистрибуцију ГГТ активности сол П-Н као и сол П-О (у распону молекулских маса *b*-ГГТ и *s*-ГГТ) је пратила дистрибуција протеинске траке молекулске масе 120 kDa. Сличност је уочена и у елуционим профилима *Con A*- и *WGA*-реактивних гликана сол П-Н и сол П-О који су се елуирали као два делимично раздвојена пика. Посебно, анализа муцинских антигена сол П-Н је указала да постоји један пик *CA19-9* у подручју молекулских маса *b*-ГГТ, односно два пика *CA125* у распону молекулских маса *b*-ГГТ и *s*-ГГТ. За разлику од сол П-Н, у сол П-О, муцински антиген *CA19-9* се елуирао као два пика у распону молекулских маса *b*-ГГТ и *s*-ГГТ, док се, *CA125*, елуирао као један пик у подручју молекулских маса *s*-ГГТ.

Поређењем молекулског обрасца који садржи *s*-ГГТ у сол П-Н и сол П-О, могло се закључити да између њих не постоје знатне разлике. С друге стране, поређењем молекулског обрасца који садржи *b*-ГГТ на мембрани ЕВ и молекулског обрасца солубилних молекулских форми ГГТ уочене су значане разлике у односу на присуство *Con*

A-реактивних гликана (у односу на њихове молекулске масе и бројност), као и *WGA*-реактивних гликана (у односу на бројност). Поред тога, анализа гликанске композиције молекулских образаца који садрже солубилну ГГТ је показала да су *WGA*-реактивни гликани доминантни у односу на молекулски образац *b*-ГГТ на ЕВ. Електрофоретско раздвајање (изглед и молекулска маса) *WGA*-реактивних гликана говоре у прилог томе да би они могли потицати од муцина.

Свеобухватна анализа молекулских образаца који садрже ГГТ у ЕВ и сол П резултирала је дефинисањем референтних параметара за анотацију молекулских форми ГГТ: гликански потпис, солубилизациони потпис и хомологни / хетеологни комплекс. Анотација се односила на опис структурне хетерогеност појединачне молекулске форме ГГТ и обједињавала је различите аспекте њене ко-локализације и ко-изолације у односу на селектоване мембранске или солубилне маркере.

Аналитички параметари селектованих компоненти молекулског обрасца који садржи ГГТ, указали су на разлике у аотираној *b*-ГГТ форми између нормоспермичних и олигоспермичних узорака СП. Оне су се односиле на презентацију гликана на нативним ЕВ популацијама и на дистрибуцију ТС и Гал-3, на мембранским доменима ЕВ отпорним на дејство детерцента. Анотација *b*-ГГТ из СП, на основу гликанског потписа или солубилизационог потписа, има биомаркерски потенцијал који захтева даље испитивање и потврду у фазама валидације и стандардизације.

В. Упоредна анализа резултата из докторске дисертације са подацима из литературе

Гликобиохемијска карактеризација молекулских образаца који садрже ГГТ, која је предмет рада ове докторске дисертације, представља нови начелни концепт анализе структурне хетерогености биомаркера. Она је у складу је са публикованим резултатима који произилазе из идеје унапређења дијагностичког потенцијала биомаркера када: (1) се он анализира заједно са другим селектованим молекулима (мултимаркерски приступ) или (2) се одређивање његових структурних карактеристика, тј. опис биомаркера комбинује са одређивањем његове концентрације / активности.

На основу анализе резултата гликобиохемијске карактеризације молекулских образаца, у овој тези су дефинисани референтни параметри за анотацију молекулских форми ГГТ, који истовремено престављају параметре којима се карактерише површина/мембрана ЕВ за које је показано да могу представљати носаче *b*-ГГТ форме. Карактеризација ове форме представља централни део резултата овога рада. Детекција ГГТ на ЕВ из СП је у складу са претходним налазима који говоре о присуству ГГТ активности у СП (3), посебно у мембранској фракцији ткива која доприносе екстраћелијском саставу СП (3,4).

Дефинисање референтних параметара за анотацију *b*-ГГТ форме је додатни квалитативни критеријум који је у складу са концептом стандардизације ЕВ (5) и важећим

критеријумима у овој области са једне стране, а са друге стране, са концептом анализе појединачних молекулских форми ГГТ (6). Интернационално друштво за екстрацелуларне везикуле (енгл. *International Society for Extracellular Vesicles, ISEV*) је покренуло иницијативу за утврђивање минималних информација о ЕВ које се истражују у различитим областима (енгл. *Minimal Information for Studies of Extracellular Vesicles, MISEV*). Оне, између осталог, садрже препоруке и смернице које се тичу номенклатуре и карактеризације ЕВ (5,7,8). У складу са критеријумима који указују на значај карактеристика површине ЕВ за њихову стандардизацију, у овом раду је анализирана ГГТ као маркер ЕВ, заједно са ТС који су, најчешће, коришћени у ову сврху (5). Поред ТС, и ензими на површини ЕВ се користе као маркери (9), а резултати овога рада су показали да ГГТ, са аспекта присуства на ЕВ популацијама, локализације на мембранским доменима и специфичне активности, такође, може бити маркер ЕВ.

Гликански потпис и солубилизациони потпис су у овом раду дефинисани као референтни параметри за анотацију *b*-ГГТ форме. Они су се базирали на гликобиохемијској карактеризацији молекулских образаца који садрже ГГТ, а анализа и акценат на гликанима као кључним компонентама молекулског обрасца је био методолошки оправдан избор и у складу са подацима и методама анализе гликозилације ЕВ (10) са једне стране, као и са подацима о хетерогености и ткивно специфичној гликозилацији самог молекула ГГТ (11) с друге стране. Доступни експериментални подаци указују на то да, поред заједничког гликанског потписа различитих типова ЕВ, постоје специфичности везане не само за биогенезу, већ и за физиологију ћелија (12). Површински мембрански гликани тако представљају специфичне детерминанте различитих популација ЕВ, што може бити основ за њихову диференцијацију у биолошким течностима (12). У складу са овим су и резултати овога рада добијени ЛАХ, тј. раздвајање различитих популација ЕВ из СП које представљају носаче *b*-ГГТ. Поред разлика у површинској гликозилацији, раздвојене популације ЕВ су показале различит изглед и електронску густину (на основу ТЕМ). Ови резултати су у складу ТЕМ анализом простазома која је документовала њихову хетерогеност у погледу величине (варирају од 50-200 нм), облика (округле, издужене, облика крушке), присуства/одсуства протрузија и густине (тамне и светле везикуле) (13). Поред овога, уочена је и промена у специфичној активности ГГТ на површини различитих популација ЕВ након њиховог раздвајања ЛАХ, што је у складу са налазима да окружење у којем се ГГТ налази генерално може утицати на доступност супстрата и, сходно томе, модификовати кинетику ензимске активности ГГТ, као и са налазима о променама у ГГТ активности након ослобађања из мембране (6).

Методолошки приступ заснован на ЛАХ у контексту избора лектина као лиганата представља адаптацију протокола који је раније примењен за карактеризацију хетерогености ЕВ из СП, а заснивао се резултатима добијеним јоноизмењивачком хроматографијом (14). У складу са добијеним подацима о различитом површинском наелектрисању ЕВ којем доприносе гликани (15), извршена је селекција коришћених

лектина. Примена ЛАХ за раздвајање и карактеризацију ЕВ на основу разлика у њиховом гликанском саставу је у складу са аналитичким принципима различитих типова афинитетних метода, укључујући примену ЛАХ за испитивање гликозилације самог молекула ГГТ (16).

Поред гликанског потписа, у овом раду је дефинисан и солубилизациони потпис као референтни параметар за анотацију *b*-ГГТ. Примењена методологија изоловања мембранских домена је била у складу са методологијом која се користи у експерименталном раду са мембранама (17). Поред тога, у складу са публикованим протоколима, у овом раду је за солубилизацију ЕВ коришћен нејонски детергент Тритон X-100 (TX-100) који је најчешће примењиван за екстракцију ТС и ГГТ (18,19). Методолошки нагласак на сегрегацији мембранских домена и нагласак на мембранске домене отпорне на дејство детергента је у складу са резултатима који говоре о специфичности састава ЕВ из СП коју карактерише висок садржај липидних рафтова (20,21), као и у складу са подацима да се ГГТ и све друге анализиране кључне компоненете молекулског обрасца (ТС, гликани и Гал-3) могу специфично бити повезани са липидним рафтовима (20). Интерпретација података о солубилизационом потпису је била у складу са концептом претпостављене улоге ЕВ у ћелијској комуникацији (22), и представља основ за разматрање доприноса ГГТ и ТС функционалности мембране ЕВ, као и основ за проширење истраживања различитих питања сложености мембране, за која се углавном користи ћелијска плазма мембрана као модел, на модел мембране ЕВ.

Поређење молекулске форме *b*-ГГТ која је анотирана гликанским или солубилизационим потписом између нормоспемичних и олигоспемичних узорака СП је указало на разлике у презентацији *WGA*-реактивних гликана као и дистрибуцији *CD9* и Гал-3. Уочене разлике су у складу са постојећим подацима који говоре о промени (глико)протеома укупне СП као и субпротеома ЕВ у различитим физиолошким и патолошким стањима (23). Резултати гликобиохемијске карактеризације молекулских образаца који садрже ГГТ у сол-П могу се повезати са публикованим налазима који говоре да постоји могућност постојања ГГТ велике молекулске масе која није повезана са мембраном ЕВ, већ је резултат укључивања ГГТ у макромолекулске протеинске комплексе (24). Резултати ранијих испитивања су показали да је *f*-ГГТ најзаступљенија у солубилној фракцији серума здравих особа, затим следи *s*-ГГТ и најмање заступљене *m*-ГГТ и *b*-ГГТ (25). У поређењу са подацима добијеним анализом других биолошких течности, у сол П удео *f*-ГГТ форме је био мањи од удела *s*-ГГТ. Ова разлика може бити последица интензивних протеолитичких процеса у СП и различитих механизма који су одговорни за разградњу мембрана које садрже ГГТ, или ослобађања ензима из мембране у екстрацелуларни простор (4).

Смисао и значај постојања хомологних (аутоагрегати) и хетерологних комплекса ГГТ (са липопротеинима, гликопротеинима, имуноглобулинима), који се разликују по молекулској маси није у потпуности разјашњен (26,27). У сагласности са решавањем ових

отворених питања, у овом раду се први пут уводи концепт разматрања *m*-ГГТ и *s*-ГГТ као засебних молекулских ентитета, не само на основу њихове укупне активности, већ и у односу на класу молекула који са овим формама праве специфичне комплексе.

Анализа гликанске композиције молекулских образаца који садрже солубилну ГГТ је показала њену ко-елуцију са *WGA*-реактивним гликанима који би, на основу електрофоретског раздвајања и одређене лектинске реактивности могли потицати од муцина за које је познато да имају карактеристичан профил у СП (28). Ово је у складу са резултатима који су указали на могућност да би ГГТ могла бити једна од компонената интерактома муцина, за који је раније показано да садржи глутатион и енземе повезане са глутатионом (29). Поред тога, овај резултат је и у индиректној вези (ЕВ као носач ГГТ) и са налазима добијеним на амнионској течности који су показали везу ЕВ са муцином 16, тј. *CA125* антигеном (30).

У поређењу са молекулским обрасцем који садржи *b*-ГГТ на мембрани ЕВ, молекулски обрасци солубилних молекулских форми ГГТ су били уочљиво различити у односу на присуство *Con A*-реактивних гликана (у односу на њихове молекулске масе и бројност), као и *WGA*-реактивних гликана (у односу на бројност). Разлике у дистрибуцији гликана на мембранским и солубилним формама гликопротеина и ЕВ су, на сличан начин, показане у испитивањима гликома СП кога карактерише просторно раздвајање одређених типова гликана и различит лигандни капацитет за ендogene лектине (28). Поред тога, у литератури је документовано да се *b*-ГГТ, у односу на друге молекулске форме, највише мења у различитим патофизиолошким стањима (31,32). То је у складу са резултатима овога рада који показују да се солубилне молекулске форме ГГТ не разликују, а да се *b*-ГГТ разликује између испитиваних група узорака.

Интерпретација свеукупних резултата ове докторске дисертације је била у складу са концептом ЕВ као хетерогених анализата и њиховом значају за течну биопсију у медицинској биохемији (33–35). Поред тога, она је била у складу са потребом за детаљним дефинисањем појма *b*-ГГТ и њеном структурном анотацијом као додатним параметром који ће повећати њен биомаркерски потенцијал (6,36).

Г. Провера оригиналности докторске дисертације

Провера оригиналности ове докторске дисертације извршена је на начин који је прописан Правилником о поступку провере оригиналности докторских дисертација које се бране на Универзитету у Београду.

Програм *iThenticate* је регистровао укупно 7% поклапања са 83 извора. Преклапање текста са једним извором износи 3%, а са свим осталим изворима мање од 1%. Детаљним увидом у материјал утврђено је да је подударност текста последица коришћења личних имена, назива одређених анализата, реагенса и примењених инструменталних метода,

преклапања са публикованим радовима кандидата, те навођења општих места у вези са темом дисертације.

На основу резултата провере сматрамо да је докторска дисертација Тамаре Јанковић у потпуности оригинална, као и да су поштована академска правила цитирања.

Д. Закључак – образложење научног доприноса докторске дисертације

Резултати овог рада, на основу којих су установљени референтни параметри за анотацију ГГТ форми велике молекулске масе, употпунили су основна знања о хетерогености овог молекула и указали да се ГГТ може разматрати не само као индивидуални, већ и композитни биомаркер. Дефинисање референтних параметара представља централни допринос овог истраживања. Они се могу сматрати вредним додатком и потенцијалним фактором диференцијације при стандардном одређивању ГГТ активности, и ово је прва студија такве врсте. Поред тога, резултати добијени у овој дисертацији отварају могућност и да се ГГТ не одређује само у серуму (или некој другој нефракционисаној телесној течности), већ и на ЕВ, које су и саме данас препознате као аналит течне биопсије од посебног значаја.

Имајући у виду есенцијална својства гликана као и ЕВ који их чине хетерогеним аналитима, увођење површинских гликопараметара је значајно за поређење изолата ЕВ добијених различитим методама, као и за бољи увид у хетерогеност сваке појединачне молекулске форме ГГТ, посебно *b*-ГГТ. За испитивање презентације *b*-ГГТ у контексту мембранских гликана ЕВ, у овој студији је коришћена ЛАХ, што представља оригинални методолошки приступ који је по први пут примењен на ЕВ из СП. Сепарација *b*-ГГТ (на мембрани ЕВ) од посебног је значаја када се разматра њена потенцијална примена у контексту течне биопсије и клиничке дијагностике. Штавише, ово је неопходно када се молекулски обрасци који садрже ГГТ разматрају као додатни параметар за диференцијацију њених форми различите молекулске масе.

Као кључна компонента молекулског обрасца, *b*-ГГТ је анализирана на неколико нивоа, који су обухватили различите мембранске (глико)протеине. Молекулски образац, на тај начин, обједињује различите компоненте на основу заједничког биолошког пута, који укључује секреторни апарат ћелије и повезане механизме посттранслационих модификација. У том смислу, молекулски образац омогућава да се ГГТ разматра у светлу њених структурних карактеристика, молекула релевантних за њен транспорт, као и лиганада, односно интерагујућих молекула. Овако установљен молекулски образац има потенцијал да додатно укаже на разлике у молекулским формама ГГТ и унапређује стандардно одређивање ензимске активности, зато што је по природи селективнији у односу на сваки од појединачних параметара који су до сада коришћени, тј. у односу на концентрацију и молекулску масу.

У овом раду, први пут је уведен и концепт разматрања солубилних форми велике молекулске масе, *m*-ГГТ и *s*-ГГТ, као засебних молекулских ентитета. Одговарајући молекулски обрасци дефинисани су не само на основу мерења укупне активности ГГТ, већ и у односу на класу молекула који, са овим формама, граде специфичне комплексе.

Поред традиционалног одређивања концентрације ГГТ, као и нове тенденције одређивања ГГТ форми дефинисаних на основу молекулске масе, у овом раду су, по први пут, одређене молекулске форме ГГТ које су аотиране референтним параметрима као што су гликански или солубилизациони потпис. Поређење аотираних ГГТ форми из нормоспермичних и олигоспермичних узорака СП је омогућило је да се добије увид у међусобне разлике, чиме се отварају могућности за њихову потенцијалну примену као биомаркера.

У целини, налази добијени у овој дисертацији пружају значајан научни допринос јер указују да рекогнитивна својства хетерогеног анализата, као што је ГГТ, представљају нове молекулске детерминанте које се могу анализирати у контексту нативног протеома. Сагледавање укупних резултата добијених анализом ЕВ и сол-П СП, као модела, би могло да утиче на увођење новог правца одређивања ГГТ као биомаркера, који се базира на истовременој детекцији изабраног структурног параметра ензима и саме ензимске активности.

Посебну научну вредност истраживања представља интердисциплинарни приступ у коме се теоријско и методолошко искуство из медицинске биохемије, гликобиологије и молекуларне биологије ЕВ интерактивно повезује у циљу примене у лабораторијској медицини.

Литература

1. Gruson D, Bodovitz S. Rapid emergence of multimarker strategies in laboratory medicine. *Biomarkers*. 2010;15(4):289–96.
2. Silva MLS. Capitalizing glycomic changes for improved biomarker-based cancer diagnostics. *Explor Target Anti-tumor Ther*. 2023;4(3):366–95.
3. Krishnaswamy PR, Tate SS, Meister A. γ -glutamyl transpeptidase of human seminal fluid. *Life Sci*. 1977;20:681–6.
4. Verhoeven G, Steeno O. Evidence for the prostatic origin of gamma-glutamyltransferase activity in human semen. *Andrologia*. 1979;11(2):163–9.
5. Welsh JA, Goberdhan DCI, O'Driscoll L, Buzas EI, Blenkiron C, Bussolati B, et al. Minimal information for studies of extracellular vesicles (MISEV2023): From basic to advanced approaches. *J Extracell Vesicles*. 2024;13(2):e12404.
6. Fornaciari I, Fierabracci V, Corti A, Elawadi HA, Lorenzini E, Emdin M, et al. Gamma-glutamyltransferase fractions in human plasma and bile: Characteristic and biogenesis. *PLoS One*. 2014;9:e88532.
7. Lötvall J, Hill AF, Hochberg F, Buzás EI, Vizio D Di, Gardiner C, et al. Minimal experimental requirements for definition of extracellular vesicles and their functions: A

position statement from the International Society for Extracellular Vesicles. *J Extracell Vesicles*. 2014;3(1):26913.

8. Théry C, Witwer KW, Aikawa E, Alcaraz MJ, Anderson JD, Andriantsitohaina R, et al. Minimal information for studies of extracellular vesicles 2018 (MISEV2018): a position statement of the International Society for Extracellular Vesicles and update of the MISEV2014 guidelines. *J Extracell Vesicles*. 2018;7:1535750.
9. Hallal S, Túzesi Á, Grau GE, Buckland ME, Alexander KL. Understanding the extracellular vesicle surface for clinical molecular biology. *J Extracell Vesicles*. 2022;11(10):e12260.
10. Vrablova V, Kosutova N, Blsakova A, Bertokova A, Kasak P, Bertok T, et al. Glycosylation in extracellular vesicles: Isolation, characterization, composition, analysis and clinical applications. *Biotechnol Adv*. 2023;67:108196.
11. West MB, Segu ZM, Feasley CL, Kang P, Klouckova I, Li C, et al. Analysis of site-specific glycosylation of renal and hepatic γ -glutamyl transpeptidase from normal human tissue. *J Biol Chem*. 2010;285(38):29511–24.
12. Williams C, Royo F, Aizpurua-Olaizola O, Pazos R, Boons G-J, Reichardt N-C, et al. Glycosylation of extracellular vesicles: current knowledge, tools and clinical perspectives. *J Extracell Vesicles*. 2018;7:1442985.
13. Poliakov A, Spilman M, Dokland T, Amling CL, Mobley JA. Structural heterogeneity and protein composition of exosome-like vesicles (prostasomes) in human semen. *Prostate*. 2009;69(2):159–67.
14. Kosanović M, Milutinović B, Goč S, Mitić N, Janković M. Ion-exchange chromatography purification of extracellular vesicles. *Biotechniques*. 2017;63:65–71.
15. Williams C, Pazos R, Royo F, González E, Roura-Ferrer M, Martinez A, et al. Assessing the role of surface glycans of extracellular vesicles on cellular uptake. *Sci Rep*. 2019;9:11920.
16. Delanghe JR, De Buyzere ML, de Scheerder IK, Faust U, Wieme RJ. Activation energy and lectin affinity chromatography of gamma-glutamyltransferase as a marker for enzyme heterogeneity. *Clin Biochem*. 1989;22(2):115–9.
17. Lichtenberg D, Ahyayauch H, Alonso A, Goñi FM. Detergent solubilization of lipid bilayers: A balance of driving forces. *Trends Biochem Sci*. 2013;38(2):85–93.
18. Miller SP, Awasthi YC, Srivastava SK. Studies of human kidney γ glutamyl transpeptidase. Purification and structural, kinetic, and immunological properties. *J Biol Chem*. 1976;251(8):2271–8.
19. Luo J, Zhu S, Kang Y, Liu X, Tan X, Zhao J, et al. Isolation of CD63-positive epididymosomes from human semen and its application in improving sperm function. *J Extracell Vesicles*. 2024;13:e70006.
20. Dubois L, Ronquist KG, Ek B, Ronquist G, Larsson A. Proteomic profiling of detergent resistant membranes (lipid rafts) of prostasomes. *Mol Cell Proteomics*. 2015;14:3015–22.
21. Skotland T, Llorente A, Sandvig K. Lipids in extracellular vesicles: what can be learned about membrane structure and function? *Cold Spring Harb Perspect Biol*. 2023;15(8):a041415.
22. Couch Y, Buzàs EI, Vizio D Di, Gho YS, Harrison P, Hill AF, et al. A brief history of nearly EV-erything – The rise and rise of extracellular vesicles. *J Extracell Vesicles*. 2021;10(14):e12144.
23. Governini L, Haxhiu A, Shaba E, Vantaggiato L, Mori A, Bruttini M, et al. Unraveling the multi-omic landscape of extracellular vesicles in human seminal plasma. *Biomolecules*.

- 2025;15(6):836.
24. Remaley A, Wilding P. Macroenzymes: biochemical characterization, clinical significance, and laboratory detection. *Clin Chem.* 1989;35(12):2261–70.
 25. Franzini M, Bramanti E, Ottaviano V, Ghiri E, Scatena F, Barsacchi R, et al. A high performance gel filtration chromatography method for γ -glutamyltransferase fraction analysis. *Anal Biochem.* 2008;374:1–6.
 26. Artur Y, Wellman-Bednawska M, Jacquier A, Siest G. Complexes of serum gamma-glutamyltransferase with apolipoproteins and immunoglobulin A. *Clin Chem.* 1984;30:631–3.
 27. Huseby NE. Multiple forms of serum γ -glutamyltransferase. Association of the enzyme with lipoproteins. *Clin Chim Acta.* 1982;124:103–12.
 28. Milutinovic B, Mitic N, Roncevic J, Goc S, Jankovic M. Glycome complexity of human seminal plasma high molecular mass components: Evaluation of the contribution of acid-soluble glycoproteins/mucins and extracellular vesicles. *Arch Biochem Biophys.* 2016;609:20–30.
 29. Radicioni G, Cao R, Carpenter J, Ford AA, Wang TT, Li Y, et al. The innate immune properties of airway mucosal surfaces are regulated by dynamic interactions between mucins and interacting proteins: the mucin interactome. *Mucosal Immunol.* 2016;9(6):1442–54.
 30. Mitić N, Kosanović M, Milutinović B, Goč S, Mladenović D, Grubiša I, et al. Nano-sized CA125 antigen glycomouflage: Mucin - extracellular vesicles alliance to watch? *Arch Biochem Biophys.* 2018;653:113–20.
 31. Sueyoshi S, Sawai S, Satoh M, Seimiya M, Sogawa K, Fukumura A, Tsutsumi M NF. Fractionation of gamma-glutamyltransferase in patients with nonalcoholic fatty liver disease and alcoholic liver disease. *World J Hepatol.* 2016;8(36):1610.
 32. Franzini M, Fornaciari I, Fierabracci V, Elawadi HA, Bolognesi V, Maltinti S, et al. Accuracy of b-GGT fraction for the diagnosis of non-alcoholic fatty liver. *Liver Int.* 2012;32:629–34.
 33. Valencia K, Montuenga LM. Exosomes in liquid biopsy: The nanometric world in the pursuit of precision oncology. *Cancers (Basel).* 2021;13(9):2147.
 34. Dong X, Lin Y, Li K, Liang G, Huang X, Pan J, et al. Consensus statement on extracellular vesicles in liquid biopsy for advancing laboratory medicine. *Clin Chem Lab Med.* 2024;63(3):465–82.
 35. Tenchov R, Sasso JM, Wang X, Liaw WS, Chen CA, Zhou QA. Exosomes nature's lipid nanoparticles, a rising star in drug delivery and diagnostics. *ACS Nano.* 2022;16:17802–46.
 36. Foddìs R, Franzini M, Bonotti A, Marino R, Silvestri R, Fallahi P, et al. Big and free fractions of gamma-glutamyltransferase: New diagnostic biomarkers for malignant mesothelioma? *Diagnostics.* 2022;12:311.

Б. Објављени резултати који чине део докторске дисертације:

1. **Janković T, Goč S, Mitić N, Danilović Luković J, Janković, M.** Membrane-associated gamma-glutamyl transferase and alkaline phosphatase in the context of concanavalin A- and wheat germ agglutinin-reactive glycans mark seminal prostasome populations from

normozoospermic and oligozoospermic men. Upsala Journal of Medical Sciences, 2020:125(1):10-8. (IF₂₀₁₈=2.747; у категорији Medicine, General & Internal (39/159); M21)

2. **Janković T**, Danilović Luković J, Miler I, Mitić N, Hajduković Lj, Janković, M. Assembly of tetraspanins, galectin-3, and distinct N-glycans defines the solubilization signature of seminal prostasomes from normozoospermic and oligozoospermic men. Upsala Journal of Medical Sciences, 2021:126(1):1-10. (IF₂₀₂₁=2,646; у категорији Medicine, General & Internal (96/172); M22)
3. **Janković T**, Danilović Luković J, Goč S, Mitić N, Hajduković Lj, Janković, M. Gamma-glutamyltransferase-associated glycoprotein patterns in human seminal plasma of normozoospermic men: A new aspect of biomarker heterogeneity. Biomedical Papers of the Medical Faculty of the University Palacky, Olomouc, Czechoslovakia, 2024:168(4):319-25. (IF₂₀₂₄=0,7; у категорији Medicine, Research & Experimental (170/195); M23)

Е. Одлуке локалних етичких одбора за спровођење истраживања

Истраживање које је спроведено у овој докторској дисертацији одобрено је од стране Етичке комисије Института за примену нуклеарне енергије-ИНЕП (број одлуке 02-1462/2) од 14.12.2021. године и Етичког комитета за биомедицинска истраживања Фармацеутског факултета, Универзитета у Београду (број одлуке 2001/3) од 09.09.2022. године.

Ж. Мишљење и предлог

На основу детаљне анализе докторске дисертације под називом „Гликобиохемијска карактеризација молекулских образаца који садрже гама-глутамил трансферазу у екстрацелуларним везикулама и солубилном субпротеому семене плазме човека“ докторанда Тамаре Јанковић, Комисија сматра да је ова докторска дисертација урађена према одобреној пријави, да је оригинално и самостално научно дело и да су се стекли услови за њену јавну одбрану.

Истраживање је методолошки прецизно конципирано, а добијени резултати су систематично анализирани и критички сагледани у односу на актуелна достигнућа савремене научне литературе. Наведени закључци у пуној мери произилазе из резултата истраживања. Резултати ове докторске дисертације публиковани су у три научна рада у међународним часописима категорије M21 (један рад), M22 (један рад) и M23 (један рад), што потврђује научни квалитет и допринос спроведеног истраживања.

На основу изложеног, Комисија сматра да докторска дисертација испуњава све критеријуме прописане Законом о високом образовању и правилницима Универзитета у Београду за стицање академског назива доктора наука. Стога предлажемо Наставно-научном већу Универзитета у Београду - Фармацеутског факултета да прихвати овај извештај и упути га Већу научних области медицинских наука ради добијања сагласности

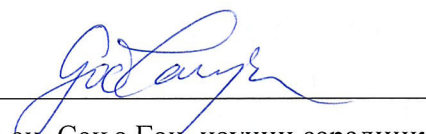
за јавну одбрану докторске дисертације под називом „ Гликобиохемијска карактеризација молекулских образаца који садрже гама-глутамил трансферазу у екстрацелуларним везикулама и солубилном субпротеому семене плазме човека“, докторанда магистра фармације-медицинског биохемичара Тамаре Јанковић.

У Београду

30.09.2026.



Др сц. Јелена Векић, редовни професор,
Универзитет у Београду – Фармацеутски факултет
Катедра за медицинску биохемију



Др сц. Сања Гоч, научни сарадник,
Универзитет у Београду – Институт за примену нуклеарне енергије-ИНЕП,
Одељење за имунохемију и гликобиологију



Др сц. Бато Кораћ, научни саветник,
Универзитет у Београду – Институт за биолошка истраживања „Синиша Станковић“,
Институт од националног значаја за Републику Србију
Одељење за физиологију