

Одлуком Наставно-научног вијећа Медицинског факултета у Фочи, Универзитета у Источном Сарајеву, број 01-3-111 од 10.03.2022. године, именована је Комисија за оцјену и одбрану урађене докторске дисертације кандидата Обреновић др Мирослава под насловом "УДРУЖЕНОСТ ПОЛИМОРФИЗАМА ЗА ГЕНЕ *TOLL-LIKE 3*, *TOLL-LIKE 7* И *TOLL-LIKE 9* РЕЦЕПТОРА СА РИЗИКОМ ЗА НАСТАНАК И ИСХОДОМ БОЛЕСТИ КОД ПАЦИЈЕНАТА СА ОРАЛНИМ СКВАМОЗНОЋЕЛИЈСКИМ КАРЦИНОМОМ“

(у даљем тексту: Комисија)¹ у сљедећем саставу:

1. Проф. др Ненад Лаловић, ужа научна област Хирургија, Медицински факултет Фоча, предсједник Комисије;
2. Проф. др Србољуб Стошић, ужа научна област Максилофацијална хирургија, ВМА Универзитет одбране у Београду, члан Комисије;
3. Проф. др Ружица Козомара, ужа научна област Оториноларингологија са максилофацијалном хирургијом, ВМА Универзитет одбране у Београду, члан Комисије;
4. Проф. др Милан Кулић, ужа научна област Хумана генетика, Медицински факултет Фоча, члан Комисије;
5. Доц. др Сениша Шолаја, ужа научна област Оториноларингологија, Медицински факултет Фоча, члан Комисије.

Комисија прегледала је и оцијенила докторску дисертацију и о томе подноси Наставно-научном вијећу Медицинског факултета у Фочи, Универзитета у Источном Сарајеву следећи

ИЗВЈЕШТАЈ **о оцјени урађене докторске дисертације**

1. Значај и допринос докторске дисертације са становишта актуелног стања у одређеној научној области

Основни предмет истраживања ове докторске дисертације је анализа повезаности полморфизама за гене *Toll-like 3*, *Toll-like 7* и *Toll-like 9* рецептора са ризиком за настанак, као и са током и исходом болести код пацијената лијечених због оралног сквамозноћелијског карцинома. Орални сквамозноћелијски карцином је по учесталости шесто малигно обољење у људској популацији, са око 350 000 новонасталих случајева годишње и око 50 000 смртних случајева. И поред свих модалитета лијечења, смртност од ове болести је глобално и даље висока те петогодишње преживљавање износи око 50%. Од раније су познати ризико-фактори који фаворизују настанак оралног сквамозноћелијског карцинома. Ту спадају: конзумација алкохола и дувана, хроничне инфламације, преканцерске лезије усне

¹Комисија има најмање три члана од којих најмање један није у радном односу на Универзитету

шупљине, вирусне инфекције, посебно хумани папиломавирус, итд. Иако се доста зна о генетској основи канцерогенезе, још увијек остаје доста neodговорених питања које се тичу комплексног процеса оралне канцерогенезе. *Toll-like* рецептори припадају групи тзв. тип 1 трансмембранских гликопротеина и представљају кључне рецепторе урођеног имуног одговора (моноцита, макрофага, дендритичних ћелија, неутрофила и ендотелијалних ћелија). До сада је детектовано 10 *Toll-like* рецептора у хуманој популацији. Чињеница да је код одређених пацијената са дијагностификованим карциномима током лијечења долазило до развоја инфекције након које би дошло до регресије карцинома, понукало је стручну заједницу да се подробније позабави улогом *Toll-like* рецептора на сам процес канцерогенезе. Наиме, први резултати таквих анализа указали су на повећану експресију *Toll-like* рецептора на различитим туморским ћелијама (карциному плућа, простате, грлића материце, ларинкса итд.). Утврђено је и да стимулација одређених *Toll-like* рецептора (*TLR3*, *TLR7* и *TLR9*) може изазвати антитуморски, док опет стимулација других *Toll-like* рецептора (*TLR2* и *TLR4*) изазива протуморски одговор. Посљедњу деценију почело је испитивање утицаја полиморфизама нуклеотидне секвенце гена *Toll-like* рецептора на ризик за настанак, као и на ток и исход различитих малигнитета. *TLR3*, *TLR7* и *TLR9* припадају тзв. интрацелуларним *Toll-like* рецепторима. Предмет истраживања ове докторске дисертације је утицај полиморфизама *rs5743312* и *rs3775291 TLR3* гена као и полиморфизама *rs3853839 TLR7* и *rs187084 TLR9* гена на ризик од настанка оралног сквамозноћелијског карцинома, повезаност истих са полным и старосном дистрибуцијом, конзумирањем алкохола и дувана, клиничкопатолошким варијаблама укључујући величину тумора, стадијум болести, лимфонодалним статусом, хистолошким и нуклеарним градусом, рецидивом болести, као и њихову улогу у укупном преживљавању. С обзиром да су у случају испитивања полиморфизама *TLR3* гена предмет истраживања била два полиморфизма која се налазе на дугом краку хромосома 4, изведена је и анализа гаметске неравнотеже везаности полиморфизама *rs5743312* и *rs3775291 TLR3* гена.

Анализирано је укупно 188 пацијената лијечених (хируршки) од оралног сквамозноћелијског карцинома (II и III стадијума болести) који су подијелени, у зависности од испитиваних полиморфизама, у двије групе од по 93 (*rs5743312* и *rs3775291 TLR3*) и 95 пацијената (*rs3853839 TLR7* и *rs187084 TLR9*), док је контролну групу сачињавало укупно 211 здравих испитаника, такође подијелених у двије групе од по 104 (*rs5743312* и *rs3775291 TLR3*) и 107 (*rs3853839 TLR7* и *rs187084 TLR9*) чланова.

Према нашим сазнањима, ово је прво испитивање које се бавило анализом повезаности наведених полиморфизама са ризиком, током и исходом болести код пацијената обољелих од оралног сквамозноћелијског карцинома у српској популацији. И у доступној стручној литератури недовољан је број публикованих радова који се баве поломорфизмима *TLR* гена и њиховом повезаношћу са овим малигнитетом, а прелиминарни резултати указују на њихову улогу као потенцијалних биолошких маркера овог обољења, али и могућности које се отварају у смислу апликације персонализованих терапијских протокола које би укључивали претходну генотпизацију тумора, као и развијање нових терапијских агенаса (*Toll-like* агонисти/антагонисти) који би се администрирали заједно са постојећим терапијским средствима, а који би имали за циљ мобилизацију и укључивање имунолошких механизма домаћина у циљу заустављања прогресије болести са циљем постизања коначног циља сваке антикацерске терапије – да се изазове селективна апоптоза малигних ћелија.

2. Оцјену да је урађена докторска дисертација резултат оригиналног научног рада кандидата у одговарајућој научној области

Урађена докторска дисертација је оригинално научно дјело. Полиморфизми генске секвенце *Toll-like* рецептора су посљедњих пар деценија постали веома занимљиво и узбудљиво подручје у онкогенетици. Анализирајући досадашње радове публиковане стручној литералутри, закључили смо да је ово прва студија која се бавила испитивањем повезаности полиморфизама гена за *Toll-like* 3, 7 и 9 рецепторе са оралним сквамозноћелијским карциномом у српској популацији.

На основу претпоставки и досадашњих научних доказа, истраживан је утицај горе поментих полиморфизама на ризик, ток и исход болести код пацијената српске популације који су лијечени због оралног сквамозноћелијског карцинома. Кандидат је у студији која је дизајнирана по типу мечоване студије случајева и контрола приказао резултате анализе испитиваних полиморфизама. Овај научни рад дао је основе за нека будућа истраживања у области оралне канцерогенезе која имају за циљ сеобухватно сагледавање утцаја полиморфизама генске секвенце гена за *Toll-like* рецепторе на орални сквамозноћелијски карцином.

3. Преглед остварених резултата рада кандидата у одређеној научној области

Захваљујући оригиналном и веома добро одабраном приступу проблему, кандидат је у студији која је обухватила 188 пацијената лијечених због оралног сквамозноћелијског карцинома и 211 здравих особа које су сачињавале контролне групе добио јасне и значајне резултате који представљају значајан допринос истраживању у овој области. Доказано је да постоје мање или веће статистичке значајне разлике у генотипској дистрибуцији испитиваних полиморфизама између група пацијената лијечених због оралног сквамозноћелијског карцинома и контролних група, уочена је повезаност испитиваних полиморфизама са неким од посматраних клиничкопатолошких варијабли, уочен је хаплотип *Toll-like 3* рецептора повезан са лошијом прогнозом, а добијени резултати повезаности одређених испитиваних полиморфизама са преживљавањем од оралног сквамозноћелијског карцинома указују на оправданост истраживања и на потребу да се још више пажње усмјери на испитивање утицаја полиморфизама нуклеотидне секвенце *Toll-like* рецептора на орални сквамозноћелијски карцином.

4. Оцјену о испуњености обима и квалитета у односу на пријављену тему (по поглављима)²

Увод

Кандидат је у уводу јасно дефинисао епидемиолошке карактеристике оралног сквамозноћелијског карцинома, његову етиопатогенезу, специфичности оралне канцерогенезе, постојеће дијагностичке и терапијске протоколе, историјат *Toll-like* рецептора, са посебним освртом на особине и улогу *Toll-like 3*, *Toll-like 7* и *Toll-like 9* рецептора, основне карактеристике полиморфизма генске секвенце са освртом на концепт гаметске неревнотеже стабилности.

Циљеви

Циљеви истраживања су јасно постављени и усаглашени са хипотезом.

²Испуњеност обима и квалитета у односу на пријављену тему, нарочито, треба да садржи: аналитички и системски прилаз у оцјењивању истраживачког постављеног предмета, циља и задатака у истраживању; испуњеност научног прилазу доказивања тврдњи или претпоставки у хипотезама, са обрадом података

Материјал и методе

Кандидат је јасно указао на научни метод истраживања у свом раду. Истраживање повезаности полиморфизама *rs5743312* и *rs3775291 TLR3* гена је рађено на 93 пацијента који су оперисани у Клиници за максиларнофацијалну хирургију ВМА Београд због оралног сквамозноћелијског карцинома и 104 здрава испитаника контролне групе коју су чинили добровољни даваоци крви Института за трансфузиологију ВМА Београд, одговарајуће полне и старосне дистрибуције и етничке припадности. Истраживање повезаности полиморфизама *rs3853839 TLR7* и *rs187084 TLR9* гена је рађено на 95 пацијента који су оперисани у Клиници за максиларнофацијалну хирургију ВМА Београд због оралног сквамозноћелијског карцинома и 107 здравих испитаника контролне групе коју су чинили добровољни даваоци крви Института за трансфузиологију ВМА Београд, одговарајуће полне и старосне дистрибуције и етничке припадности

Детаљно су описани параметри за дијагностификовање оралног сквамозноћелијског карцинома, начин узорковања и чувања туморског ткива пацијената лијечених због оралног сквамозноћелијског карцинома, начин узорковања и чувања периферне крви испитаника контролне групе, метод ДНК изолације и генотипизације као и статистичке методе које су се користиле у истраживању.

Резултати

Резултати су јасно приказани у виду графикона, табела и *Kaplan-Meier* кривуља преживљавања, правилно анализирани статистичким методама обраде података и адекватно и јасно су интерпретирани.

Дискусија

Кандидат коментарише добијене резултате поредећи их са другим студијама које су се бавиле сличном проблематиком.

Закључци

Закључци докторске тезе представљају концизне одговоре постављеним циљевима у

истраживању.

Литература

У раду је цитирано 148 библиографских јединица из ове области, правилно наведених у тексту и литератури. Докторска теза је по квалитету, обиму и сложености испунила циљеве и задатке постављене у пријави тезе.

5. Научне резултате докторске дисертације

Детаљни и прецизни резултати анализе демографских карактеристика и преваленце испитиваних полиморфизама у групама пацијената лијечених због сквамозноћелијског карцинома и контролним групама, анализа повезаности испитиваних генотипова са ризиком од настанка оралног сквамозноћелијског карцинома, резултати повезаности испитиваних полиморфизама са клиничкопатолошким варијаблама, анализа гаметске неравнотеже и хаплотипска анализа полиморфизама *rs5743312* и *rs3775291 TLR3* гена, као и резултати анализе повезаности испитиваних полиморфизама за гене *Toll-like 3*, *Toll-like 7* и *Toll-like 9* рецептора са преживљавањем од оралног сквамозноћелијског карцинома представља оригиналан научни допринос кандидата.

6. Примјенљивост и корисност резултата у теорији и пракси³

Поред веома важног научног значаја ове докторске дисертације у подручју онкологије и онкогенетике која се бави оралним сквамозноћелијским карциномом, резултати ове докторске дисертације имају значај не само за генетичаре, молекуларне биологе и фармакологе, већ и за клиничаре, посебно за специјалисте максилнофацијалне хирургије, оториноларингологије, онкологије и онкордиологије, јер додатно баца свјетло на комплексност процеса онкогенезе, али и отвара могућности добијања одговора на улогу полиморфизама генске секвенце за гене *Toll-like 3*, *Toll-like 7* и *Toll-like 9* рецептора на ризик од настанка, ток и исход оралног сквамозноћелијског карцинома, све у циљу развоја индивидуалног терапијског приступа који би се базирао на претходној генотипизацији пацијената обољелих од овог малигнитета, затим идентификацији неких од испитиваних полиморфизама као биолошких маркера прогнозе болести као и развоју нових терапијских агенаса који би „таргетирали“ одређене *Toll-like* рецепторе, што је тренутно једно од

³ Истаћи посебно примјенљивост и корисност у односу на постојећа рејешења теорије и праксе

занимљивијих подручја којима се баве савремене клиничке студије, чије резултате с нестрпљењем очекујемо.

7. Начин презентирања резултата научној јавности⁴

Мр сци. мед. Мирослав Обреновић ће резултате свога истраживања објавити у научним часописима и приказати на конгресима и научним скуповима из области максилофацијалне хирургије, онкологије и генетике.

8. ЗАКЉУЧАК И ПРЕДЛОГ⁵

На основу детаљне анализе докторске дисертације под називом „Удруженост полиморфизама за гене *Toll-like 3*, *Toll-like 7* и *Toll-like 9* рецептора са ризиком за настанак и исходом болести код пацијената са оралним сквамозноћелијским карциномом“, комисија је једногласно закључила да је кандидат изабрао актуелну и оригиналну тему истраживања коју је спровео поштујући све принципе научног рада и користећи савремене методе испитивања и анализе резултата. Добијени резултати представљају допринос савременој медицинској науци, посебно у области максилофацијалне хирургије, али и онкологије и генетике.

На основу наведеног, Комисија са задовољством предлаже Научно-наставном већу Медицинског факултета у Фочи, Универзитета у Источном Сарајеву да одобри јавну одбрану ове докторске дисертације мр сц мед. Мирославу Обреновићу, којом ће стећи звање доктора медицинских наука.

Мјесто: Фоћа

Датум: 14.03.2022.

Комисија:

⁴ Наводе се радови докторанта у зборницима и часописима у којима су објављени (истраживачки проблеми и резултати предмета истраживања докторске дисертације)

⁵У закључку се, поред осталог, наводи и назив квалификације коју докторант стиче одбраном тезе

1. Проф.др Ненад Лаловић, ужа научна област Хирургија, Медицински факултет Фоча, председник Комисије;

2. Проф.др Србољуб Стошић, ужа научна област Максифацијална хирургија, ВМА Универзитет одбране у Београду, члан Комисије

3. Проф.др Ружица Козомара, ужа научна област Оториноларингологија са максифацијалном хирургијом, ВМА Универзитет одбране у Београду, члан Комисије;

4. Проф.др Милан Кулић, ужа научна област Хумана генетика, Медицински факултет Фоча, члан Комисије;

5. Доц.др Сениша Шолаја, ужа научна област Оториноларингологија, Медицински факултет Фоча, члан Комисије.

Издвојено мишљење⁶:

1. _____, у звању _____ (НО _____, УНО _____),
Универзитет _____,
Факултет _____ у _____, члан Комисије;

⁶Чланови комисије који се не слажу са мишљењем већине чланова комисије, обавезни су да у извештај унесу издовојено мишљење са образложењем разлога због се не слажу са мишљењем већине чланова комисије (члан комисије који је издвојио мишљење потписује се испод навода о издвојеном мишљењу)