

NASTAVNO – NAUČNOM VEĆU STOMATOLOŠKOG FAKULTETA U BEOGRADU

Nastavno-naučno veće Stomatološkog fakulteta, Univerziteta u Beogradu je na IV redovnoj sednici u školskoj 2015/2016. godini, održanoj 15.03.2016. godine, donelo odluku zavedenu pod brojem 3/15 o imenovanju komisije za ocenu i odbranu završene doktorske disertacije dr Jelene Čarčić pod nazivom

„Telomere kao faktor genomske nestabilnosti kod oralnih planocelularnih karcinoma“.

Na osnovu pregleda priloženog materijala, komisija u sastavu prof. dr Marko Babić, doc. dr Milan Petrović i doc. dr Sanja Radojević-Škodrić podnosi Nastavno-naučnom veću sledeći

I Z V E Š T A J

Kandidat dr Jelena Čarčić je rođena 04.08.1982. godine u Beogradu. Stomatološki fakultet Univerziteta u Beogradu upisala je 2001. godine i diplomirala u septembru 2009. godine sa prosečnom ocenom 9.45. Dobitnik je nagrade za najboljeg studenta prve godine osnovnih studija za 2002. godinu.

Pripravnički staž obavila je na istom fakultetu, a državni ispit položila u decembru 2010. godine. Doktorske studije upisala je u oktobru 2010. godine i položila sve ispite predviđene nastavim planom i programom sa prosečnom ocenom 9.81. Od januara 2012. godine je angažovana kao saradnik na projektu Ministarstva za prosvetu, nauku i tehnološki razvoj Vlade RS, Ev. br. 175075 “Genetička kontrola i molekularni mehanizmi u malignim, inflamatornim i razvojnim patologijama orofacijalne regije”.

Nastavno-naučno veće Stomatološkog fakulteta, Univerziteta u Beogradu je na IV redovnoj sednici u školskoj 2013/2014. godini, održanoj 03.06.2014. godine i zavedenoj pod

brojem 3/52, usvojilo pozitivan izveštaj stručne komisije za ocenu predloga teme i imenovalo prof. dr Branku Popović za mentora ove doktorske disertacije. Doktorska disertacija dr Jelene Čarkić je napisana na 106 strana, raspoređenih u 7 poglavlja: Uvod, Ciljevi, Materijal i metode, Rezultati, Diskusija, Zaključci i Literatura. Dokumentovana je sa 11 tabela i 62 slike.

U **Uvodu** kandidat opisuje epidemiološke, kliničke i patohistološke karakteristike oralnih planocelularnih karcinoma (OPCK) i njihovu etiologiju sa posebnim akcentom na molekularno-genetičke mehanizme. S obzirom na značajnu ulogu telomera u genomskoj nestabilnosti i razvoju OPCK, opisana je njihova građa i funkcija, kao i mehanizam dejstva enzima telomeraze u održavanju stabilnosti telomera u tumorskim ćelijama. Takođe, istaknut je značaj polimorfizama TERT-CLPTM1L genskog regiona, kao mogućih faktora rizika za razvoj brojnih neoplazija uključujući OPCK, kao i njihov uticaj na aktivnost enzima telomeraze i održavanje telomera. U cilju sagledavanja zbirnog efekta analiziranih polimorfizama, objašnjen je značaj studija asocijacije kao i gametska neravnoteža vezanosti, koja može uticati na asocijaciju polimorfizma sa kancerom.

U poglavlju **Ciljevi** istraživanja jasno su navedeni ciljevi studije i hipoteza istraživanja:

- Utvrditi frekvencu različitih polimorfizama TERT i CLPTM1L gena kod dve grupe ispitanika (pacijenti sa oralnim planocelularnim karcinomom i zdrave osobe)
- Ispitati asocijaciju pojedinačnih polimorfizama TERT i CLPTM1L gena, kao i njihovih haplotipova, sa rizikom za nastanak planocelularnih karcinoma
- Odrediti nivo ekspresije enzima telomeraze, i ispitati postojanje korelacije sa kliničkim i patohistološkim parametrima
- Proceniti dužine telomera i korelisati ih sa kliničkim i patohistološkim parametrima
- Ispitati asocijaciju između analiziranih polimorfizama, ekspresije telomeraze i dužine telomere

Hipoteza istraživanja:

Polimorfizmi gena: TERT, rs2736100 (A>C) i rs2736098 (G>A); CLPTM1L, rs402710 (C>T), predstavljaju faktore rizika za nastanak oralnih planocelularnih karcinoma, dovodeći do povećanja nivoa ekspresije enzima telomeraze i promena u dužini telomera sa progresijom tumora.

U **Materijalu i metodama** detaljno je opisan dizajn studije, uključujući sve primenjene metode u okviru molekularno-genetičkog i imunohistohemijskog ispitivanja. Ova retrospektivna studija obuhvatila je dve grupe ispitanika: pacijente i kontrole. Grupu pacijenata činile su 93 osobe obolele od OPCK i lečene na Klinici za maksilofacijalnu hirurgiju Stomatološkog fakulteta Univerziteta u Beogradu. Kontrolna grupa obuhvatila je 100 zdravih osoba bez prethodno dijagnostikovanih kancera. Genomska DNK za potrebe molekularno-genetičkih ispitivanja dobijena je iz parafinskih isečaka OPCK, kao i iz briseva bukalne sluzokože kontrolne grupe. Nakon izolacije DNK, za određivanje relativne dužine telomera u tumorskim ćelijama, korišćena je real-time PCR metoda, a za genotipizaciju TERT-CLPTM1L polimorfizama kod pacijenata i kontrola, primenjena je PCR/RFLP analiza (lančana reakcija polimeraze i restrikciona analiza). Ekspresija telomeraze ispitana je primenom imunohistohemijskog bojenja histoloških preparata tumorskog tkiva. Statistička obrada dobijenih rezultata urađena je primenom statističkog programa SPSS 17.0.

U poglavlju **Rezultati** prikazane su distribucije ispitanika po polu/starosti, kliničkim i histo-patohistološkim karakteristikama tumora. Zatim, tabelarno i grafički prikazane su distribucije genotipova za ispitivane polimorfizme kod pacijenata i kontrola, kao i njihova asocijacija sa: rizikom od OPCK, kliničko-patološkim parametrima, dužinom telomera i ekspresijom telomeraze. Ekspresija telomeraze korelisana sa kliničko-patološkim i molekularno-genetičkim parametrima, prikazana je putem grafikona, dok su dobijene vrednosti dužine telomera u asocijaciji sa kliničkim i molekularnim parametrima, prikazane grafički i tabelarno. Na kraju ovog poglavlja analizirane su razlike u dužini preživljavanja pacijenata sa OPCK u odnosu na: kliničko-patološke parametre, analizirane polimorfizame, ekspresiju telomeraze i dužinu telomera.

Diskusija je podeljena na tri celine, sa prikazanim analizama genskih polimorfizama, ekspresije telomeraze i dužine telomera. U ovom poglavlju, kandidat tumači i poredi dobijene rezultate sa rezultatima dosadašnjih relevantnih istraživanja, koja su se bavila sličnom problematikom. Dobijeni rezultati idu u prilog hipotezi, da je ekspresija telomeraze i veća dužina telomera, odlika ranih razvojnih faza tumora. S obzirom na činjenicu da ne postoji veliki broj studija koje su se bavile uticajem TERT-CLPTM1L polimorfizama na ekspresiju telomeraze i

dužinu telomera u tumorskom tkivu, posebno kod OPCK, to ovim rezultatima daje posebnu težinu.

Zaključci pružaju odgovore na postavljene ciljeve i jasno su formulisani. Kandidat navodi da su dva od tri ispitivana polimorfizma (TERT rs2736100 i CLPTM1L rs402710) pokazala značajnu asocijaciju sa rizikom od OPCK, dok treći (TERT rs2736098) pokazuje suprotan efekat, odnosno dovodi do smanjenog rizika od ovog tumora. Nivo povezanosti među analiziranim polimorfizmima bio je nizak i nije pokazan uticaj ovih polimorfizama na ekspresiju telomeraze i dužinu telomera, kao ni asocijacija sa kliničkim i patohistološkim karakteristikama tumora. Ekspresija telomeraze bila je prisutna u većini tumora (oko 70%), što ukazuje na njenu važnost u kontrolisanju genomske nestabilnosti OPCK. Takođe, registrovana ekspresija telomeraze u ranim fazama kancerogeneze, kod tumora sa većom dužinom telomera, može se povezati sa sprečavanjem veće genomske nestabilnosti. Nasuprot trendu dužih telomera u ranim razvojnim fazama, prisustvo kraćih telomera u kasnijim stadijumima, može biti pokazatelj loše prognoze, a što potvrđuje podatak o značajno smanjenom preživljavanju pacijenata sa kraćim telomerama.

Literatura sadrži 118 bibliografskih jedinica iz domaće i strane relevantne literature.

ZAKLJUČAK

Doktorska disertacija dr Jelene Čarkić predstavlja dobro dizajniranu studiju koja daje značajan doprinos u oblasti proučavanja uloge telomera, ekspresije telomeraze i TERT-CLPTM1L polimorfizama u oralnoj kancerogenezi. Jasnim sagledavanjem uloge navedenih molekularno-genetičkih markera, otvara se mogućnost uvođenja novih molekularnih parametara u dijagnostičke i terapijske protokole OPCK.

S obzirom na to da su postavljene ciljevi proučeni odgovarajućim naučnim metodama, rezultati jasno predstavljeni i interpretirani, a diskusija detaljno i sveobuhvatno prikazana, komisija smatra da kompleksnost ove disertacije ukazuje na naučnu relevantnost kandidata.

Nakon uvida u dostavljeni tekst, komisija je jednoglasno ocenila da doktorska disertacija pod nazivom „**Telomere kao faktor genomske nestabilnosti kod oralnih planocelularnih karcinoma**“ dr Jelene Čarkić predstavlja originalno, samostalno i dobro dokumentovano istraživanje. Originalnost ove studije, zasniva se kako na dobijenoj pretpostavci o ulozi telomera u oralnoj kancerogenezi, tako i na činjenici da ova vrsta problematike nije do sada analizirana u domaćoj literaturi.

Doktorska disertacija ispunjava sve kriterijume propisane Zakonom o Univerzitetu i statutima Univerziteta i Stomatološkog fakulteta u Beogradu.

Na osnovu iznetog, predlažemo Nastavno-naučnom veću Stomatološkog fakulteta Univerziteta u Beogradu da prihvati izveštaj i odredi datum javne odbrane ove doktorske disertacije.

Prof. dr Marko Babić
Stomatološki fakultet, Univerzitet u Beogradu

Doc.dr Milan Petrović
Stomatološki fakultet, Univerzitet u Beogradu

Doc. dr Sanja Radojević-Škodrić
Medicinski fakultet, Univerzitet u Beogradu

