

NASTAVNO-NAUČNOM VEĆU STOMATOLOŠKOG FAKULTETA UNIVERZITETA U BEOGRADU

Odlukom Nastavno-naučnog veća Stomatološkog fakulteta u Beogradu, donetoj na IV redovnoj sednici u školskoj 2015/16. godini, održanoj 15.03.2016. godine, imenovani smo u komisiju za ocenu završene doktorske disertacije dr Branislava Ilića, pod naslovom „**Ispitivanje polimorfizama gena za metilentetrahidrofolat reduktazu, glutation transferazu, faktor nekroze tumora α i njegove receptore u epitelnim tumorima usne duplje**”. Komisija u sastavu: Prof.dr Snježana Čolić (Stom.fakultet – Beograd), Prof.dr Miroslav Vukadinović (Stom.fakultet – Beograd) i Prof.dr Ivana Novaković (Med.fakultet – Beograd), vrednujući rad kandidata na doktorskim studijama i na osnovu analize priloženog rukopisa disertacije, podnosi Nastavno-naučnom veću sledeći

IZVEŠTAJ

Doktor stomatologije Branislav Ilić rođen je 25.10.1981. godine u Beogradu. Osnovnu školu i X gimnaziju u Beogradu završio je sa odličnim uspehom kao nosilac Diplome Vuk Karadžić. Stomatološki fakultet Univerziteta u Beogradu upisao je 2000. godine, a diplomirao 2005. godine sa prosečnom ocenom 9,45. Državni ispit položio je 2006. godine.

Magistarsku tezu iz oblasti maksilofacijalne hirurgije pod nazivom „Ispitivanje polimorfizama gena za MTHFR i GST kao faktora rizika za nastanak planocelularnih karcinoma usne duplje“ uspešno je odbranio 2009. godine. 2011. godine položio je specijalistički ispit i stekao zvanje specijaliste oralne hirurgije.

Tokom školovanja bio je stipendista Ministarstva prosvete Republike Srbije, Fondacije za razvoj naučnog i umetničkog podmlatka, Ambasade kraljevine Norveške, Vlade grada Beograda, Ministarstva za nauku Vlade Republike Srbije. Kao naučni israživač – saradnik, bio je angažovan na tri projekta Ministarstva nauke Republike Srbije (evid.broj 145042, 156039, 175075). Doktor Branislav Ilić je autor i koautor 31 rada u naučnim i stručnim časopisima i naučnim skupovima, od kojih su četiri objavljena u naučnim časopisima indeksiranim u bazi SCI.

Od 2012. godine, dr Branislav Ilić je kao asistent zaposlen na Klinici za oralnu hirurgiju Stomatološkog fakulteta u Beogradu. Kontinuirano se stručno usavršava u oblasti naučnih disciplina kojima se bavi, neprestano unapređujući svoja znanja i veštine.

Nastavno-naučno veće Stomatološkog fakulteta, Univerziteta u Beogradu je 2014. godine prihvatilo predlog teme i odredilo za mentore prof.dr Jelenu Milašin i prof.dr Aleksu Markovića za izradu ove doktorske disertacije.

Doktorska disertacija dr Branislava Ilića „Ispitivanje polimorfizama gena za metilentetrahidrofolat reduktazu, glutation transferazu, faktor nekroze tumora α i njegove receptore u epitelnim tumorima usne duplje” napisana je na 121 strani, podeljena u 9 poglavlja, sadrži 44 slike i 27 tabela. U doktorskoj disertaciji autor citira 199 bibliografskih jedinica.

OBRAZLOŽENJE

U **uvodnom poglavlju** kandidat dr Branislav Ilić jasno ističe značaj ispitivanja tumora glave i vrata, s obzirom na njihovu visoku učestalost kao i činjenicu da predstavljaju veliki sociomedicinski problem. Kandidat je za temu izabrao dva tipa epitelnih tumora; jedan izrazito agresivan i invazivan - oralni planocelularni karcinom (OPK) i drugi, koji je do nedavno bio kategorisan kao cista, a koji je u novijoj klasifikaciji označen kao odontogeni keratocistični tumor (OKT). Ukazao je na činjenicu da se poslednjih decenija ulažu veliki naučni naporima ka pronalaženju molekularno-genetičkih markera koji bi se mogli dovesti u vezu sa nastankom, razvojem, biološkim ponašanjem ovih tumora, kao i njihovim odgovorom na terapiju.

Posebnu pažnju kandidat je posvetio pregledu sve brojnijih istraživanja usmerenih na nasledne (germinativne) promene, koje čine deo genetičke konstitucije svakog pojedinca. U pitanju su pre svega polimorfizmi gena čije prisustvo u genotipu osobe može da determiniše veću ili manju sklonost ka razvijanju različitih oboljenja, uključujući i OPK i OKT. Posebno težište je stavljeno na gene čiji su produkti zaduženi za procese metilacije u ćeliji - metilentetrahidrofolat-reduktaza (MTHFR), zatim na gene koji kodiraju enzime uključene u procese detoksikacije - glutation-S-transferaza (GST), i konačno na gene koji imaju ulogu u modulaciji inflamatornog i imunog odgovora - TNF alfa i njegovi receptori. U daljem delu uvoda, pored toga što je objasnio mehanizme delovanja produkata ovih gena, kandidat je opisao efekte genskih polimorfizama a takođe je dao i primere oboljenja koja se dovode u vezu sa polimorfizmima u pomenutim genima.

Sve navedeno je poslužilo kao polazna osnova za **radnu hipotezu** koju je kandidat naveo i na osnovu koje je formulisao ciljeve i zadatke istraživanja.

Osnovni **cilj** doktorske disertacije dr Branislava Ilića bio je utvrditi da li polimorfizmi u genima MTHFR, GSTM1, TNF alfa, TNF alfa receptor I i TNF alfa receptor II predstavljaju faktore rizika za nastanak epitelnih tumora usne duplje. Iz osnovnog cilja doktorske disertacije, proizašli su **zadaci** istraživanja:

- Odrediti kliničko-epidemiološke parametre pacijenata obolelih od epitelnih tumora usne duplje
- Odrediti učestalosti alela i genotipova za polimorfizme pojedinačnog nukleotida (SNP) u sledećim genima: MTHFR (C677T), TNF α (G308A), TNF α - R1 (A36G), TNF α - R2 u uzorku obolelih od odontogenog keratocističnog tumora i u zdravoj populaciji. Na osnovu logističke regresione analize utvrditi da li neki od pomenutih polimorfizama predstavlja faktor rizika za nastanak OKT.

- Odrediti učestalost GSTM1 i GSTM0 genotipa kod delecionog polimorfizma u GSTM genu u grupi obolelih od OKT i kontrolnoj grupi. Logističkom regresionom analizom utvrditi da li ovaj polimorfizam predstavlja faktor rizika za nastanak OKT.

- Odrediti učestalosti alela i genotipova za polimorfizme pojedinačnog nukleotida (SNP) u sledećim genima: MTHFR (C677T), TNF alfa (G308A), TNF α -R1(A36G), TNF α -R2 (T676G) u uzorku obolelih od planocelularnog karcinoma i u zdravoj populaciji. Na osnovu logističke regresione analize utvrditi da li neki od pomenutih polimorfizama predstavlja faktor rizika za nastanak OPK.

- Odrediti učestalost GSTM1 i GSTM0 genotipa za delecioni polimorfizam u GSTM genu u grupi obolelih od OPK i kontrolnoj grupi. Logističkom regresionom analizom utvrditi da li ovaj polimorfizam predstavlja faktor rizika za nastanak OPK.

Za ostvarivanje postavljenih ciljeva i zadataka kandidat je koristio savremenu **metodologiju**. Prospektivna kliničko-laboratorijska studija trajala je od 2007.-2014.godine. Obuhvatila je 71 osobu obolelu od OKT, 78 osoba obolelih od OPK i 182 zdravih (kontrolnih) individua. Klinički deo ispitivanja obavljen je na Klinici za oralnu hirurgiju i Klinici za maksilofacijalnu hirurgiju Stomatološkog fakulteta Univerziteta u Beogradu. Analizirani su anamnesički, klinički i epidemiološki parametri. Molekularno genetičko istraživanje je obavljeno u Laboratoriji za molekularnu genetiku Stomatološkog fakulteta u Beogradu i obuhvatilo je sledeće postupke: izolaciju genomske DNK, reakciju lančanog umnožavanja ciljnih segmenata gena (PCR - polymerase chain reaction) i analizu restrikcionih fragmenata PCR produkata (RFLPs - restriction fragment length polymorphisms), kao i real-time tehniku u ispitivanju delecionog polimorfizma u GST genima.

Rezultati su statistički obrađeni odgovarajućim testovima i prikazani u skladu sa standardima za ovu vrstu naučno-istraživačkog rada. Sistematično su opisane anamnestičke, kliničke i epidemiološke karakteristike oralnih epitelnih tumora kao i izloženost pacijenata različitim etiološkim faktorima. Date su distribucije alela i genotipova za MTHFR, GST, TNF alfa i njegove receptore, i rezultati logističke regresione analize koji ukazuju na postojanje ili nepostojanje veze između određenog polimorfizma ispitivanih epitelnih tumora.

Rezultati ove disertacije predstavljaju originalan naučni doprinos izučavanju polimorfizama gena kao faktora rizika za nastanak epitelnih tumora usne duplje.

Upoređujući svoje rezultate sa rezultatima drugih dostupnih istraživača, autor u **diskusiji** izlaže saznanja i činjenice koje doprinose ukupnom razumevanju postavljenog problema. Vrlo temeljno poredi sopstvene rezultate dobijene analizom polimorfizama gena kod pacijenata obolelih od OPK sa literaturnim podacima. Poređenje rezultata sa rezultatima drugih istraživača u okviru grupe pacijenata obolelih od OKT je praktično bilo nemoguće, s obzirom na to da je ovo prvi rad koji se bavi analizom polimorfizama u pomenutim genima kao faktorom rizika za pojavu odontogenih keratocističnih tumora.

Kandidat je na osnovu dobijenih rezultata doneo sledeće **zaključke**:

- Polimorfizmi u genu za TNF α i TNFR1 predstavljaju izrazit factor rizika za pojavu odontogenog keratocističnog tumora.
- Polimorfizmi u genu za MTHFR, GSTM1 i TNFR2 ne predstavljaju faktor rizika za nastanak odontogenog keratocističnog tumora.
- Od planocelularnog karcinoma usne duplje najčešće oboljevaju osobe muškog pola, starije životne dobi (preko 50 godina). Najčešća lokalizacija tumora je na donjoj usni, jeziku ili podu usta.
- Delecioni polimorfizam u genu za GSTT1 predstavlja značajan factor rizika za razvoj oralnog planocelularnog karcinoma.
- Polimorfizam u genu za TNFR2 je značajan faktor rizika za oboljevanje od oralnog planocelularnog karcinoma.
- Polimorfizmi u genima za MTHFR, GSTM1, TNF α , TNF α R1 nisu modulatori rizika za nastanak planocelularnog karcinoma

Iz dobijenih zaključaka proizilazi veliki značaj nasledne osnove u nastanku ovih neoplazmi. U svakodnevnoj kliničkoj praksi, hirurzi su često u nedoumici u pogledu tretiranja prekanceroznih lezija, lezija nejasne etiologije i lezija suspektih na recidiv. Ispitivanje ključnih genskih polimorfizama kojim bi se identifikovala potencijalna nasledna predispozicija individua, moglo bi da doprinese rešavanju ovakvih medicinskih problema. Iako se još uvek ne može do kraja sagledati uzrok nastanka epitelnih tumora usne duplje, molekularno-genetička istraživanja svakako pružaju nadu da će u skorijoj budućnosti dobiti odgovori na pitanje ko je podložniji, a ko manje podložan oboljevanju.

ZAKLJUČNO MIŠLJENJE

Doktorand Branislav Ilić je za predmet svog istraživanja izabrao problem od izuzetne važnosti za sagledavanje genetičke pozadine oralnih epitelih tumora. Kandidat je problem svog istraživanja kao i postavljene ciljeve jasno definisao. U realizaciji postavljenih zadataka odabrao je savremenu metodologiju, a dobijene rezultate precizno je analizirao i prikazao, diskutujući i kritički ih poredeći sa savremenim literaturnim navodima.

Doktorska disertacija Branislava Ilića je vredan plod sistematičnog rada i predstavlja originalan doprinos razrešenju nekih od postojećih dilema u stomatološkoj struci i nauci. Doktorska disertacija ispunjava sve kriterijume propisane Zakonom o Univerzitetu i statutima Univerziteta i Stomatološkog fakulteta u Beogradu.

Na osnovu iznetog izveštaja, Komisija smatra da je kandidat u potpunosti odgovorio na postavljene ciljeve disertacije i zbog toga sa zadovoljstvom predlaže Nastavno-naučnom veću Stomatološkog fakulteta u Beogradu da prihvati pozitivnu ocenu doktorske disertacije i

kandidatu dr stom. Branislavu Iliću odobri javnu odbranu doktorske disertacije pod naslovom **„Ispitivanje polimorfizama gena za metilentetrahidrofolat reduktazu, glutathion transferazu, faktor nekroze tumora α i njegove receptore u epitelnim tumorima usne duplje”**.

U Beogradu
05.05.2016.

KOMISIJA:

Prof. dr Snježana Čolić

Prof. dr Miroslav Vukadinović

Prof. dr Ivana Novaković