

НАСТАВНО-НАУЧНОМ ВЕЋУ МЕДИЦИНСКОГ ФАКУЛТЕТА ВМА
УНИВЕРЗИТЕТА ОДБРАНЕ

Одлуком бр. 13/96 од 31.03.2021. године са 96. седнице Наставно-научног већа Медицинског факултета Војномедицинске академије Универзитета одбране у Београду одржане 31.03.2022. године именована је комисија за оцену завршене докторске дисертације под насловом:

„Повезаност генетичких промена у тумор супресорима p53, p21 и сусD1 са клиничким параметрима, прогнозом и предикцијом одговора на хемиотерапију цисплатином код пацијената са HPV- негативним оралним планоцелуларним карциномом“

кандидата **асистента др мед. Саше Јовића**, запосленог на Клиници за максиларнофацијалну хирургију Војномедицинске академије у Београду.

Ментори:

ВС проф. Гордана Шупић, Медицински факултет Војномедицинске академије Универзитета одбране у Београду,

ВС проф. др Србољуб Стошић, Медицински факултет Војномедицинске академије Универзитета одбране у Београду.

Комисија за оцену завршене докторске дисертације именована је у саставу:

1. ВС проф. др Ружица Козомара, редовни професор, Универзитет одбране у Београду, Медицински факултет Војномедицинске академије, председник

2. ВС проф. др Бисерка Вукомановић Ђурђевић, Универзитет одбране у Београду, Медицински факултет Војномедицинске академије, члан

3. Проф. др Витомир Константиновић, Универзитет у Београду, Стоматолошки факултет - члан

4. ВС проф. Гордана Шупић, Универзитет одбране у Београду, Медицински факултет Војномедицинске академије, члан,

5. ВС проф. др Србољуб Стошић, Универзитет одбране у Београду, Медицински факултет Војномедицинске академије, члан.

На основу анализе приложене докторске дисертације, комисија за оцену завршеног докторског рада једногласно подноси Наставно-научном већу Медицинског факултета Војномедицинске академије Универзитета одбране у Београду следећи

ИЗВЕШТАЈ

А) Приказ садржаја докторске дисертације

Докторска дисертација написана је на 80 страна и подељена на следећа поглавља: увод (30 страна), хипотеза и циљеви истраживања (2 стране), испитаници и методе истраживања (4 стране), резултати (15 страна), дискусија (14 страна), закључци (1 страна) и литература (9 страна). Увод је илустрован са 11 слика. Резултати су документовани са 15 табела и 9 графикана. У дисертацији су цитирани подаци из 177 референци. Рад по структури има све елементе докторске дисертације.

У приложеном докторском раду истраживање се фокусирао на повезаност генетичких промена у тумор супресорима p53, p21 и сусD1 са клиничким параметрима, прогнозом и предикцијом одговора на хемиотерапију цисплатином код пацијената са HPV- негативним оралним планоцелуларним карциномом (ОСЦЦ). Упркос многим истраживањима, генетичке промене у тумор супресорима и њихова повезаност са настанком, метастазирањем и одговором на хемиотерапију код пацијената са оралним планоцелуларним карциномом је, највећим делом, недовољно разјашњен.

У поглављу увод др Јовић пружа детаљан преглед досадашњих сазнања о оралном планоцелуларном карциному и генетичким променама које се код њега уочавају. Орални планоцелуларни карцином је шести карцином по учесталости код мушкараца и десети код жена, у развијеним земљама, а трећи по учесталости код мушкараца и четврти код жена у земљама у развоју. Годишње се, у свету, дијагностикује око 600000 новооткривених болесника са карциномом главе и врата и лечење овог карцинома је јадан од највећих изазова у максилофацијалној хирургији. Карактеристике га висока стопа рецидива и лоше преживљавање.

Више фактора учествује у настанку оралног карцинома и поред синергистичког деловања пушења и алкохола, неће сви пушачи и алкохоличари добити карцином, што указује на важност индивидуалне генетске предиспозиције. Орална канцерогенеза је сложен и вишестепен процес у коме долази до прогресивног акумулирања генетичких промена. Једна од основних одлика и услова малигне трансформације ћелије је инактивација негативних регулатора ћелијске пролиферације – тумор супресорских гена тачкастим мутацијама, делецијама и реаранжманима гена. Један од најбоље проучених тумор супресора је ген за протеин p53 (TP53). Због своје кључне улоге у регулацији ћелијског циклуса и апоптозе назван је “чуварем генома” и “ћелијским чуварем капије”. Поред привременог заустављања ћелијског циклуса на преласку из G1 у S фазу, и одређивања даљег правца деобе ћелије, било у смислу поправке оштећене ДНК или прогресије ка апоптози, p53, преко ретинобластома тумор супресорског пута, може да доведе ћелије у стање перманентног заустављања ћелијског циклуса. И даље није тачно познат механизам на који начин ћелије долазе до пролазног заустављања ћелијског циклуса (checkpoint arrest) или до иреверзибилног заустављања ћелијског циклуса (senescence) и на који начин p53 одржава то стање ћелије. Он представља један од најчешће мутираних гена код карцинома. Његова мутација је откривена у више од

50% карцинома код људи. Различити облици ћелијског стреса, као што су оштећење ДНК, оксидативно оштећење, присуство активираних онкогена, хипоксија, дејство цитотоксићних-антитуморских агенаса, оштећење ДНК УВ и јонизојућим зрачењем, велика количина фактора раста и цитокина, стварају сигнале које интегрише p53 и омогућава ћелијама да одговоре на различите облике стреса. Ову функцију остварује делујући на велики број циљних гена.

p21 протеин, кодиран WAF1/CIP геном је инхибитор циклин зависних киназа, неопходних за пропацију ћелијског циклуса и индукује заустављање у G1/S тачки ћелијског циклуса. Његов ниво се нарочито брзо повећава при дејству X зрака, УВ или других нокса које доводе до ДНА оштећења. Поред заустављања ћелијског циклуса у G1/S тачки, p21 утиче и на прелаз G2 у M фазу. Циклини су кључни регулатори ћелијског циклуса који омогућавају раст нормалних ћелија, али и туморских ћелија код оралног карцинома. Постоје три изоформе циклина D: D1, D2 и D3, али је само D1 значајно експримиран у оралном карциному. Механизми који леже у основи прекомерне експресије циклина D1 код карцинома укључују амплификацију гена, хромозомску транслокацију и митогену стимулацију транскрипције гена. Полиморфизми нуклеотидне секвенце (Single Nucleotide Polymorphism, SNP) у гену за циклин D1 су нађени код оралних карцинома и доведени у везу са спречавањем деградације циклин D1 протеина. Код експерименталних животиња, његова појачана експресија, заједно са афункционалним p53, је доводила до врло брзог развоја оралних дисплазија и њихове прогресије у орални карцином. Протеклих година се у великом броју студија истражују полиморфизми гена као извор генетичке предиспозиције за настанак комплексних болести, укључујући и различите типове тумора. Полиморфизми нуклеотидне секвенце у генима CDKN1A и CCND1 нису проучавани код пацијената са оралним карциномом или било којим другим карциномом у српској популацији. Испитивање које је спровео др Јовић је проценило повезаност варијанти гена rs1801270 и rs1059234 у CDKN1A и rs9344 у CCND1 са ризиком за орални планоцелуларни карцином, клиничко-патолошким карактеристикама и прогнозом пацијената оболелих од оралног карцинома.

У досадашњим испитивањима постоје контрадикторни резултати и често недостаје свеобухватан приступ проблему који посматра генетичке промене на више различитих гена и њихов утицај на развој, ток и исход лечења оралног планоцелуларног карцинома, а на томе је др Јовић базирао своје истраживање.

На основу наведеног, др Јовић је поставио следеће **хипотезе**:

1. Мутације и полиморфизми у p53 гену, као и полиморфизми у p21 и сусD1 генима, могу бити у вези са етиолошким факторима, пушењем и уносом веће количине алкохола код пацијената са HPV–негативним оралним карциномом.
2. Генетичке промене у p53, p21 и сусD1 генима могу бити маркер тока, исхода болести и дужине преживљавања пацијената са HPV–негативним оралним карциномом.

3. Постоје разлике у учесталости генетичких промена у p53, p21 и сусD1 генима између пацијената са узнатредовалим стадијумом оралног карцинома (стадијум III и IV са метастазама лимфних чворова, N+) у односу на пацијенте са раним стадијумом болести (II стадијум, без метастаза лимфних чворова, N-).
4. Мутације и полиморфизми у p53 гену, као и полиморфизми у p53 и сусD1 генима могу бити предиктор одговора на хемиотерапију цисплатином HPV–негативних оралних карцинома.
5. Патогене мутације TP53 могу бити бољи предиктор преживљавања и одговора на хемиотерапију цисплатином HPV–негативних оралних карцинома у односу на непатогене TP53 мутације.
6. Полиморфизми у p21 и сусD1 генима могу бити у вези са предиспозицијом за појаву оралног карцинома.

За проверу хипотезе дефинисани су следећи **циљеви истраживања**:

1. Одредити учесталости мутација у p53 гену секвенцирањем егзона 4, 5, 6, 7 и 8, код 82 пацијента са HPV–негативним оралним планоцелуларним карциномом.
2. Утврдити учесталости 3 полиморфизма Real-time PCR методом, rs1059234 и rs3088440, у p21 гену (CDKN1A), као и полиморфизма rs9344 у сусD1 гену, код групе од 104 пацијената са оралним планоцелуларним карциномом, као и код 107 особа контролне групе, здравих даваоца крви, без историје малигнух обољења.
3. Стратификовати мутације у TP53 гену на ниско ризичне/непатогене и високо ризичне/патогене p53 мутације на основу њиховог клиничког значаја, на основу доступних база података NCBI (National Center for Biotechnology Information) (<https://www.ncbi.nlm.nih.gov/clinvar/>) и одговарајућих рачунарских програма за анализу мутација.
4. Утврдити повезаност ових генетичких промена у p53/p21/сусD1 генима са факторима ризика, годинама, пушењем и конзумирањем алкохола.
5. Утврдити повезаност испитиваних генетичких промена са клиничким параметрима, стадијумом болести, нуклеусним и хистолошким градусом и нодалним статусом.
6. Утврдити повезаност генетичких промена у испитиваним генима са током и исходом болести, односно са укупним преживљавањем и временом до појаве болести.
7. Утврдити повезаност испитиваних генетичких промена, посебно патогених p53 мутација, са одговором на конкомитантну хемиотерапију цисплатином у односу на пацијенте који је нису примили.

8. Утврдити повезаност полиморфизама у p21 и сусD1 генима са предиспозицијом за појаву оралног карцинома, поређењем са контролном групом здравих особа, без историје малигнух обољења.

У поглављу **испитаници и методе** кандидат на прецизан начин представио дизајн истраживања: студија је ретроспективна кохортна са периодом праћења преживљавања без болести и укупног преживљавања од минимум три године.

Такође је јасно и детаљно образложио методологију истраживања које је спроведено као академско и непрофитно истраживање према принципима добре клиничке праксе и Хелсиншке декларације. Пре спровођења студије план и протокол истраживања су достављени надлежном Етичком комитету ВМА који је одлуком број 162/2019, од 26.12.2019., дао одобрење за спровођење студије.

Укључени су пацијенти оба пола, старији од 18 година, а млађи од 80 година, код којих је клиничким и радиографским прегледима констатован и патохистолошки потврђен орални планоцелуларни карцином. Сви пацијенти су дијагностиковани, оперисани и лечени у Клиници за максилофацијалну хирургију Војномедицинске академије (ВМА) у Београд у периоду између 2015. и 2018. године. Процена операбилности вршена је на основу клиничког прегледа, радиографије плућа, компјутеризоване томографије главе и врата и ултразвучног прегледа абдомена. Код свих пацијената је рађена ексцизија примарног тумора уз дисекцију врата у зависности од клиничког и радиографског налаза. Патохистолошки су тумори класификовани према важећој ревизији TNM класификације American Joint Committee on Cancer (AJCC Cancer staging manual 8th Edition) из 2018. године и Америчког удружења за главу и врат (American Head and Neck Society).

Прецизно су дефинисани критеријуми за искључивање из студије: 1. претходно оперисани малигнитет, осим базоцелуларног карцинома коже за који постоји доказ да је радикално оперисан и не постоји рецидив. 2. рест или рецидив претходно оперисаног планоцелуларног карцинома језика и пода усне дупље. 3. преоперативно спроведена зрачна и/или хемиотерапија.

Студијом су обухваћена 104 пацијената оболелих од оралног планоцелуларног карцинома, од којих је око 2/3 (78) са узнатредовалим стадијумом болести. Постоперативно је, према протоколу, спроведена зрачна терапија у дози од 60 Gy (2Gy/дневно), а 25 пацијената је примило терапију цисплатином у дози од 100 мг/м² телесне површине у једнонедељним циклусима.

Анализа секвенцирања TP53 је рађена код 82 пацијента са оралним планоцелуларним карциномом, а анализа полиморфизама у p21 и сусD1 генима је рађена на проширеној групи од 104 пацијента са оралним планоцелуларним карциномом, од којих је 82 било обухваћено анализом мутационог статуса p53.

Контролу групу за анализу полиморфизама у р21 и сусD1 генима чини 107 здравих испитаника, одговарајуће старосне и полне дистрибуције, које нису имале орални карцином нити неко друго малигно или системско обољење.

Од 82 пацијената са оралним планоцелуларним карциномом, 35 (42,7%) је било млађе од 58 година, 58 (70,7%) су били мушкарци, 57 (69,5%) је имало историју веће конзумације алкохола, 19 (23,2%) је имало II стадијум обољења, док је 63 (76,8) % имало узрапредовале стадијуме (III и IV стадијум).

Генетичке анализе су спроведене у Одсеку за молекулску генетику, Института за медицинска истраживања, ВМА. Узорци ткива су, до екстракције ДНК, чувани на -200 ° Ц. Геномска ДНК је изолована реагенсом TRI (Sigma-Aldrich, САД), према протоколу произвођача. Узорци ДНК су чувани на -200 ° Ц до даље анализе. Типно-специфичан PCR је коришћен за идентификацију високоризичних HPV типова 16, 18, 31, 33.

Из прикупљених биолошких узорака, туморског ткива пацијената са оралним планоцелуларним карциномом и периферне крви из контролне групе, ДНК је изолована помоћу Kiagen KIAamp Mini Kit (Kiagen, Немачка) и чувана на -40°Ц до даље употребе. Циљано секвенционирање егзона 4-8 p53 је вршено апаратом за капиларно секвенцирање ABI 3130 аутоматизованом секвенцеру (Applied Biosystems, УСА). Прајмери егзона 4-8 су преузети из The International Agency for Research on Cancer (IARC) TP53 базе. PCR је рађен коришћењем Platinum Taq DNA Polymerase PCR кита (Life Technologies). Ампликони су секвенционирани коришћењем BigDye terminator cycle sequencing кита. Секвенционирани узорци су анализирани уз помоћ GeneScreen (<http://dna.leeds.ac.uk/genescreen/>), а након тога визуелном инспекцијом, при чему је као референца коришћен hg19/GRCh37 (<http://genome.ucsc.edu>).

TP53 класификација мутација је вршена према њиховом клиничком значају. За информације о патогеним мутацијама TP53, генетским варијантама са клиничким значајем, коришћени су ClinVar база National Center for Biotechnology Information (NCBI) (<https://www.ncbi.nlm.nih.gov/clinvar/>) и web сервер апликација Simple ClinVar (<http://simple-clinvar.broadinstitute.org/>). TP53 мутације су класификоване као патогене и непатогене, на основу ClinVar базе и Simple ClinVar, као и претходних студија везаних за карцином главе и врата. Missense, stop-gain, in-frame инсерције/делеције, frameshift и splice site TP53 мутације са патолошким или вероватно патолошким значајем су класификоване као патогене мутације. Вероватно бенигне, заштитне или све оне са неизвесним значајем су класификоване као непатолошке мутације.

Варијанте у генима CDKN1A и CCND1 су изабране из базе података полиморфизама нуклеотидне секвенце (енгл. single-nucleotide polymorphism SNP) према учесталости алела изнад 1%, потенцијалним функционалним ефектима на експресију гена, протеинске активности и стабилности, као и претходно спроведених студија повезаности у другим популацијама. Одабране варијанте гена унутар CDKN1A (rs1801270, rs1059234) и CCND1 (rs9344) су генотипизирани коришћењем

комерцијалних тестова генотипизације, 40xTaqMan SNPs genotyping assay (C_14977_20, C_7514111_10, C_744725_1) и 2xUniversal TaqMan Master Mix (Applied Biosystems, USA) према упутству произвођача. Генотипизација је изведена уз помоћ Real-Time PCR 7500 (Applied Biosystems, USA) под следећим условима: 95°C током 10 минута, 40 циклуса од 95°C током 15 с и 60°C током 60 с. Добијени резултати алелне дискриминације анализирани су СДС софтвером (в.2.3).

Добијени подаци су анализирани помоћу SPSS 20.0 software (IBM Inc., Chicago, IL, USA). Контингенцијске табеле су добијене применом χ^2 - теста или Fisher-овог теста. Укупно преживљавање је рачунато од датума постављања дијагнозе до смртног исхода из било ког разлога. Kaplan-Meier-ове криве преживљавања су поређене уз помоћ long-rank теста. Сох-ова пропорционална регресиона анализа ризика је коришћена за процену ниво ризика (енгл. hazard ratio, HR), са интервалом поверења од 95% (95% CI). Варијабле, за које је у униваријантној анализи утврђено да су значајне, укључујући и оне са нивоом значајности испод 20%, су после анализирани мултиваријантном Сох-овом регресионом анализом. Повезаност је посматрана као значајна ако су п вредности мање од 0.05. За утврђивање евентуалног постојања епистатичке интеракције гена и генетичких варијанти коришћена је непараметријска анализа GMDR (Generalized Multifactorial Dimensionality Reduction). Помоћу програма GMDR software, верзија 0.9, идентификоване су интеракције гена и полиморфизама по моделу који је укључио релевантне параметре (укрштена валидациона конзистентност (енг. cross validation consistency, CVC)), тестирање балансиране поузданости (testing balanced accuracy, TeBA), испробавање балансиране поузданости (training balanced accuracy, TrBA)), а вредности вероватноће мање од 0.05 су сматране значајним.

У поглављу **резултати**, аутор приказује детаљно обрађене податке и јасно представља све добијене резултате.

Дискусија је написана јасно и прегледно, уз упоредни приказ података из литературе и добијених резултата из докторске дисертације.

Закључци сажето приказују најважније налазе који су проистекли из резултата рада.

Литература садржи 177 референци.

Б) Кратак опис постигнутих резултата

Кандидат у овом поглављу детаљно представља и описује добијене резултате који показују:

1. Патогене мутације TP53 биле су значајно повезане са старошћу и високим уносом алкохола. Локално узнатредовали тумори нису имали статистички значајно већу стопу мутација TP53 или патогене мутације TP53, у поређењу са почетним стадијумима оралног планоцелуларног карцинома. Мутације у екзону 4 гена p53 биле су значајно повезане са хистолошким и нуклеарним градусом, док су мутације у екзону 7 повезане са пушењем цигарета.

2. HPV-негативни ОСЦЦ пацијенти са мутираним TP53 имали су тенденцију ка лошијем преживљавању, за разлику од пацијената без TP53 мутација. Међутим, ОСЦЦ пацијенти са патогеним мутацијама у TP53 имали су значајно смањено укупно преживљавање. Непатогене мутације TP53 нису биле повезане са укупним преживљавањем пацијената са ОСЦЦ.

3. У подгрупи од 25 пацијената који су примали хемиотерапију, када су узете у обзир све мутације p53, статус мутације p53 није био повезан са одговором на хемиотерапију. Међутим, укупно преживљавање код пацијената који су примили хемиотерапију цисплатином било је значајно краће за оне са патогеним мутацијама p53 у поређењу са пацијентима са немутираним (wild type; wt) p53. Непатогене мутације TP53 код пацијената који су примили хемиотерапију цисплатином нису биле повезане са укупним преживљавањем у нашој кохорти. Ови налази указују на то да је одговор на хемиотерапију повезан са типом p53 мутације и да су пацијенти са патогеним мутацијама p53 показали резистенцију на хемиотерапију на бази платине, за разлику од пацијената са немутираним p53.

4. Сох-ова регресиона анализа је показала да су високи унос алкохола, стадијум, величина тумора, нодални статус и рецидиви високо повезани са повећаним ризиком од краћег преживљавања. Док су пацијенти са p53 мутацијама имали повећан ризик од краћег преживљавања, али који није достигао значајност, пацијенти са патогеним мутацијама p53 имали су значајно повећан ризик од лошег преживљавања. Варијабле за које је утврђено да су статистички значајне у униваријантној анализи, укључујући варијабле са нивоом значајности испод 20%, додатно су анализирани у мултиваријантној Сох-овој регресионој анализи. Мултиваријантна анализа је открила да су рецидиви независан прогностички фактор краћег преживљавања код испитиване групе ОСЦЦ пацијената, док се остали фактори нису издвојили као независни предиктори преживљавања.

5. Учесталост генотипа и алела варијанте rs9344 гена CCND1 значајно се разликовала између ОСЦЦ пацијената и контролне групе. Нису примећене разлике у дистрибуцији генотипова за rs1801270 и rs1059234 у гену CDKN1A. Варијанте гена су испитиване на постојање равнотеже везаности односно Hardy-Weinberg еквилибријума (HWE) у испитиваним групама. Није било одступања од HWE ($P > 0,05$), осим у случају варијанте CDKN1A rs1801270 у групи ОСЦЦ пацијената.

6. Резултати добијени анализом прилагођеног односа ризика, који је прилагођен полу и старости, показују да је CCND1 rs9344 повезан са предиспозицијом за ОСЦЦ.

Хетерозиготни GA, као и мутирани AA генотип, били су повезани са повећаним ризиком за ОСЦЦ у поређењу са wild type GG. Рецесивни генетички модел који тестира мутирани AA у односу на комбиновани хетерозиготни GA и wild type GG, показује повезаност са повећаним ризиком за ОСЦЦ. Није пронађена повезаност у доминантном генетичком моделу. Анализирани варијанте rs1801270 и rs1059234 у гену CDKN1A нису биле повезане са ризиком за појаву ОСЦЦ.

7. Уочен је статистички тренд за везу између rs9344 варијанте гена CCND1 и старости. Ни за једну варијаблу (године, пол, пушење цигарета и конзумирање алкохола) није пронађена повезаност са анализираним варијантама генима CDKN1A и CCND1.

8. CCND1 rs9344 модел високог ризика за ОСЦЦ идентификован је GDMR анализом и високоризични генотип је AA.

9. Нису уочене значајне разлике у укупном преживљавању између пацијената са ОСЦЦ-ом са wild type, хетерозиготним и мутираним генотиповима испитиваних варијанти rs1801270, rs1059234 и rs9344. Нису примећене разлике у преживљавању без болести код пацијената са ОСЦЦ са wild type, хетерозиготним и мутираним генотиповима rs1801270, rs1059234 и rs9344.

10. Није било значајних разлика у преживљавању између комбинованих хетерозиготних и мутираних генотипова у односу на wild type свих анализираних варијанти у генима CDKN1A и CCND1. Нису примећене разлике у укупном преживљавању када се упореде криве преживљавања мутираног генотипа у односу на wild type и хетерозигот комбиноване за све анализирани варијанте.

11. Према резултатима Сох-ове анализе ризика, као независни прогностички фактори код ОСЦЦ пацијената идентификован је унос алкохола, хистолошки и нуклеарни градус, стадијум, величина тумора, лимфонодални статус и рецидиви.

В) Упоредна анализа резултата докторске дисертације са резултатима из литературе

У поглављу дискусија кандидат садржајно и критички сагледава резултате у складу са постојећим сазнањима добијеним анализом података из литературе из области генетичких испитивања код пацијената са оралним планоцелуларним карциномом. Начин писања дискусије и примећени аргументи јасно показују да др Јовић у потпуности влада проблематиком којом се бави тема докторске дисертације. Овим истраживањем добијени су подаци да би патогене мутације TP53 у HPV-негативним ОСЦЦ туморима могле бити прогностички маркер који указује на краће време укупног преживљавања и да HPV-негативни ОСЦЦ пацијенти са патогеном мутацијом TP53 који су примили хемиотерапију цисплатином имају значајно нижу стопу преживљавања у односу на пацијенте који немају патогене мутације TP53. Такође, значајан је проналазак да се rs9344 варијанта у CCND1 гену може сматрати

потенцијалним молекуларним биомаркером повећаног ризика за предиспозицију ка развоју оралног карцинома.

Узимајући у обзир да је орални карцином хетерогено обољење са високим процентом рецидива и ниском стопом преживљавања, а традиционални начин процењивања преко TNM класификације недовољан, од великог клиничког значаја је проналазак додатних молекуларних маркера, који се виде у резултатима истраживања, ризика, тока и исхода болести, који би омогућавали праћење, адекватну прогнозу, а по могућству и диктирали избор индивидуалне терапије. По досадашњим сазнањима полиморфизми у генима p21 и сусD1 до сада нису истраживани као маркери прогнозе или ризика код пацијената са оралним карциномима у популацији Србије. Иако су у више студија анализирани мутације p53 гена код HPV-негативних оралних карцинома, није примењивана клиничка класификација на патогене и непатогене мутације на основу најновијих доступних база података, а коју препоручује NCBI. Корелација патогених мутација у p53 гену са слабијим одговором на хемиотерапију цисплатином, у односу на пацијенте који нису имали мутацију на p53 гену, би могла да укаже на предиктивни значај овог маркера и на могућност индивидуализоване хемиотерапије пацијената на основу њиховог генотипа.

Г) Објављени радови из докторске дисертације

1. **Jovic S**, Kozomara R, Stosic S, Jovandic S, Zeljic K, Supic G. Pathogenic tp53 mutations influence chemotherapy response and survival rate of HPV-negative oral carcinomas.

Vojnosanitetski pregled, 2022 OnLine-First Issue (00): 68-68
<https://doi.org/10.2298/VSP200525068J> **M23; IF=0.168**

2. **Jović S**, Zeljić K, Ivković N, Štefić D, Kozomara R, Stošić S, Šupić G. Cyclin D1 and p21 gene variants and oral squamous cell carcinoma risk and prognosis. Archives of Biological Sciences. 2021; 73(4): p. 437-445. <https://doi.org/10.2298/ABS210813037J> **M23; IF=0.956.**

Д) Закључак и предлог

Кандидат асистент др мед. Саша Јовић испуњава све услове који обухватају написану докторску дисертацију и објављене радове који су из ње проистекли у часопису из категорије М23 (међународни часописи) са IF=0.168 и IF=0.956 у којима је кандидат аутор.

Докторска дисертација „**ПОВЕЗАНОСТ ГЕНЕТИЧКИХ ПРОМЕНА У ТУМОР СУПРЕСОРИМА p53, p21 И сусD1 СА КЛИНИЧКИМ ПАРАМЕТРИМА, ПРОГНОЗОМ И ПРЕДИКЦИЈОМ ОДГОВОРА НА ХЕМИОТЕРАПИЈУ ЦИСПЛАТИНОМ КОД ПАЦИЈЕНАТА СА HPV- НЕГАТИВНИМ ОРАЛНИМ ПЛАНОЦЕЛУЛАРНИМ КАРЦИНОМОМ**“ представља оригиналан и актуелан

научни рад из области молекуларне медицине. Истраживање је спроведено према свим начелима етичког приступа и научно-истраживачког рада. Теза је написана јасно, систематично, студиозно и целовито. Добијени резултати представљају значајан и оригиналан допринос истраживању генетичких промена код пацијената са оралним планоцелуларним карциномом.

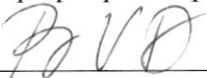
На основу изнетог, имајући у виду досадашњи научни рад кандидата, комисија закључује да докторска дисертација др Јовића испуњава све предвиђене критеријуме које академска пракса захтева, и као таква, представља значајан допринос проучавању у датој области. Будући да кандидат испуњава све законом предвиђене услове за одбрану докторске дисертације, комисија једногласно предлаже Одбору за специјалистичке и докторске студије Медицинског факултета Војномедицинске академије Универзитета одбране да извештај прихвати и предложи Настано-научном већу Медицинског факултета ВМА УО да овај рад прихвати као завршену докторску дисертацију кандидата асистента др мед. Саше Јовића и одобри јавну одбрану.

У Београду 11.04.2022.

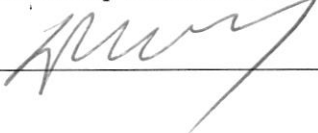
ВС проф. др Ружица Козомара



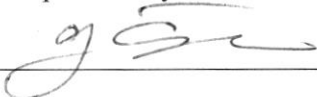
ВС проф. др Бисерка Вукомановић Ђурђевић



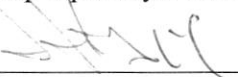
Проф. др Витомир Константиновић




ВС проф. Гордана Шупић



ВС проф. др Србољуб Стошић




РЕПУБЛИКА СРБИЈА
МИНИСТАРСТВО ОДБРАНЕ
УНИВЕРЗИТЕТ ОДБРАНЕ
Медицински факултет ВМА
Бр. 1772-1
15.04.2022 год
БЕОГРАД