

НАСТАВНО НАУЧНОМ ВЕЋУ МЕДИЦИНСКОГ ФАКУЛТЕТА

УНИВЕРЗИТЕТА У БЕОГРАДУ

На седници **Наставно-научног већа** Медицинског факултета у Београду, одржаној дана 18.12.2024. године, број 19/II-3/3-ВМ, именована је комисија за оцену завршене докторске дисертације под насловом:

„Испитивање улоге сенесценције и елемената *HEDGEHOG* сигналног пута у менигиоима”

кандидата др Владимира Мијајловића, запосленог у Служби за патологију, патохистологију и медицинску цитологију Универзитетског клиничког центра Србије у Београду.

Име и презиме ментора	Звање	Научна област	Установа у којој је запослен
др Силвио Де Лука	Редовни професор	Патолошка физиологија	МФУБ
др Емилија Манојловић Гачић	Ванредни професор	Патологија	МФУБ

Комисија за оцену завршене докторске дисертације именована је у саставу:

Име и презиме члана комисије	Звање	Научна област	Установа у којој је запослен
др Светислав Татић	Редовни професор	Патологија	МФУБ
др Јелена Нешовић Остојић	Редовни професор	Патолошка физиологија	МФУБ
др Марина Никитовић	Редовни професор	Радиологија	МФУБ
др Владимир Башчаревић	Ванредни професор	Неурохирургија	МФУБ
др Иван Чапо	Ванредни професор	Патологија	МФУ Нови Сад

На основу анализе приложене докторске дисертације, комисија за оцену завршене докторске дисертације једногласно подноси Научном већу Медицинског факултета следећи

ИЗВЕШТАЈ

А) Приказ садржаја докторке дисертације

Докторска дисертација др Владимира Мијајловића написана је на укупно 71 страну и подељена је на следећа поглавља: увод, циљеви истраживања, материјал и методе, резултати, дискусија, закључци и литература. У дисертацији се налази укупно 26 табела, 16 графикона и 23 илустрације. Докторска дисертација садржи сажетак на српском и енглеском језику, податке о комисији, биографију кандидата, прилог, списак скраћеница коришћених у тексту и списак објављених радова.

У **уводу** су наведени најзначајнији подаци релевантни за научну тематику докторске дисертације. У првом делу је чињен кратак осврт на порекло менингиома, физиолошки функцију менингиотелних ћелија, као и на хипотезе о повезаности настанка менингиома са ембрионалним

пореклом менингиотелних ћелија. Затим је укратко приказана епидемиологија менингиома. У наставку увода се налази систематски приказ актуелне класификације менингиома Светске здравствене организације, илустрован микрофотографијама менингиома и употпуњен описом значаја примене имунохистохемије у савременој дијагностици менингиома. У другом делу увода је описан феномен сенесценције од његовог открића до савремених схватања према којима сенесценција има ефекат „мача са две оштрице“. Истиче се да краткотрајно дејство сенесценције може имати антитуморски ефекат, док дуготрајно дејство може стимулисати развој бројних оболења, укључујући туморогенезу и прогересију тумора. У оквиру треће целине су остакнути кључни елементи *Hedgehog* сигналног пута са детаљнијим описом досарашњих научних сазвања о елементима (GLI2, GLI3 и SUFU) који су анализирани у истраживању.

Циљеви рада су прецизно дефинисани и састоје се из три целине: 1) Одређивање експресије маркера сенесценције (p16, p21 и SA-β-GAL) у ткиву менингиома методом имунохистохемије; 2) Одређивање експресије маркера *Hedgehog* сигналног пута (GLI2, GLI3 и SUFU) у ткиву менингиома методом имунохистохемије; 3) Одређивање повезаности експресије маркера сенесценције и маркера *Hedgehog* сигналног пута са градусом, локализацијом, хистолошким подтипом и митотском активношћу менингиома, као и полом пацијената.

У поглављу **материјал и методе** је наведено да се ради о ретроспективној студији којом је обухваћено 343 пацијента са дијагнозом менингиома који су били подвргнути неурохируршком третману на Клиници за неурохирургију Универзитетског Клиничког центра Србије у Београду у периоду од 1. јануара 2016. до 30. јуна 2018. . За анализу су коришћени ПХ извештаји и архивски узорци ткивних парафински блокова из којих су конструисани ткивни микронизови. Студија је спроведена у складу са смерницама Хелсиншке декларације и одобрена од стране Етичког комитета Медицинског факултета Универзитета у Београду (Етичка дозвола број 341/7–2023). Пацијенти су подељени у групе према градусу менингиома (градуси 1, 2 и 3), хистолошком подтипу, локализацији, полу и узрасту. Експресија маркера сенесценције (p16, p21 и SA-β-GAL) и маркера *Hedgehog* сигналног пута (GLI2, GLI3 и SUFU) у ткиву менингиома је учињена методом имунохистохемије. Статистичким тестовима је анализирана повезаност и разлике између маркера сенесценције, између маркера *Hedgehog* сигналног пута, као и повезаност свих наведених маркера са градусом, локализацијом, хистолошким подтипом и митотском активношћу менингиома, као и полом пацијената

У поглављу **резултати** детаљно су описани и јасно и сликовито приказани сви добијени резултати.

Дискусија је написана прегледно и јасно. Приказани су подаци других истраживања са упоредном анализом резултата добијеним у докторској дисертацији.

Закључци сажето приказују најважнија постигнућа која су проистекла из резултата докторске дисертације.

Научни допринос докторске дисертације истиче значај повезаности експресије GLI3 и p16 са градусом менингиома, њихов потенцијални прогностички значај; такође указује на могућност испитивања анти- GLI3 агенаса у даљим истраживањима.

Коришћена **литература** садржи списак од 196 референце.

Б) Провера оригиналности докторске дисертације

На основу Правилника о поступку провере оригиналности докторских дисертација које се бране на Универзитету у Београду и налаза у извештају из програма iThenticate којим је извршена провера оригиналности докторске дисертације „ Испитивање улоге сенесценције и елемената *Hedgehog* сигналног пута у менигиомима ”, аутора Владимира С. Мијајловића, констатује се да утврђено подударање текста износи 28%. Овај степен подударности последица је претходно публикованих резултата докторандових истраживања, који су проистекли из његове дисертације, навођења методологије истраживања, као и библиографских података о коришћеној литератури, при чему степен подударности са сваком појединачном ставком наведеном у Извештају износи 1 или мање од 1%, што је у складу са чланом 9. Правилника. („Гласник Универзитета у Београду“, број 201/18).

Ц) Кратак опис постигнутих резултата

Резултати су показали позитивну корелацију између експресије p16 и градусом менингиома ($Rho = 0,135$, $p = 0,016$), као и статистички значајну разлику у експресији p16 између менингиома градуса 1 и 2 ($p = 0,006$). Такође је уочена позитивна корелација између експресије p16 и митотске активности менингиома. Позитивна корелација градуса менингиома је уочена и са експресијом SA- β -GAL, као и статистички значајна разлика у експресији SA- β -GAL између менингиома градуса 1 и 2. Статистички значајне корелације и разлике у експресији p21 између градуса менингиома нису уочене. Корелација митотске активности са експресијом SA- β -GAL и p21 није уочена. Такође, није уочена корелација свих анализираних маркера сенесценције са полом, узрастом, локализацијом и хистолошким подтипом менингиома. Анализом корелације између маркера сенесценције у целокупној кохорти уочена је статистички значајна позитивна корелација између SA- β -GAL и p16 ($Rho = 0,150$, $p = 0,008$), као и између SA- β -GAL и p21 ($Rho = 0,115$, $p = 0,041$). Поређењем експресије p16, p21 и SA- β -GAL између различитих хистолошких подтипова менингиома градуса 1 нису уочене статистички значајне разлике. Статистички значајне корелације између експресије p16 и p21 у целокупној кохорти нису уочене ($Rho = 0,027$, $p = 0,638$).

Статистички значајне разлике у експресији SUFU и GLI2 између менингиома различитих градуса нису уочене, док су уочене у експресији GLI3 ($p = 0,003$). Прецизније, статистички значајне разлике су уочене између менингиома градуса 1 и 2 ($p = 0,010$) и 1 и 3 ($p = 0,041$). Такође су уочене статистички значајне разлике у експресији GLI3 између менингиома различитих локализација ($p = 0,016$). Експресија GLI3 је значајно виша у менигиомима конвекситета у поређењу са спиналним менингиомима ($p = 0,008$), као и у менигиомима базе у поређењу са спиналним менингиомима ($p = 0,005$). Разлике у експресији SUFU и GLI2 нису уочене између менингиома различитих локализација. Није утврђена статистички значајна корелација између експресије маркера GLI3, SUFU и GLI2 и старости пацијената. Постоји статистички значајна позитивна корелација између експресије GLI3 и броја митоза у менингиомима ($Rho = 0,146$, $p = 0,009$), што није утврђено код експресије SUFU и GLI2. Такође, уочена је статистички значајна позитивна корелација између експресије GLI3 и градуса менингиома ($Rho = 0,210$, $p < 0,001$). Експресија GLI3 је значајно нижа код мушкараца него код жена ($p = 0,002$), док разлике у експресији SUFU и GLI2 нису уочене између полова. Поређењем експресије GLI2, GLI3 и SUFU између различитих хистолошких подтипова менингиома градуса 1 су уочене појединачне статистички значајне разлике у експресији GLI2 и SUFU, док у експресији GLI3 нису уочене. Испитивањем корелације елемената *Hedgehog* сигналног пута, GLI2, GLI3 и SUFU уочена је статистички значајна позитивна корелација између GLI2 и GLI3 (кофицијент корелације 0,201, $p <$

0,001), као и статистички значајна позитивна корелација између експресије SUFU и GLI2 у целој кохорти менингиома (коэффициент корелације 0,239, $p < 0,001$).

Митотска активност менингиома код мушкараца је статистички значајно виша него код жена ($p = 0,018$).

Д) Упоредна анализа докторске дисертације са резултатима из литературе

Значај примене неколико маркера у циљу детекције сенесценције се у овој дисертацији огледа кроз позитивну корелацију између SA- β -GAL и p16 (статистички значајна), као и између SA- β -GAL и p21 (близу статистичке значајности), који указују на значај узajмног дејства ових маркера сенесценције у менингиомима и у складу са резултатима ранијих истраживања (Gorgoulis V, Cell. 2019).

Повећана експресија p16 у менингиоима градуса 2 у односу на менингиома градуса 1 је у складу са скорашњим истраживањима (Tang V et al. Acta Neuropathol. 2023, Carreno G et al. Neuropathol Appl Neurobiol. 2021), у којима је ово испитивање вршено софистициранијим методама. P16 би, према томе, мога да се користи као сурогат маркер хомозиготне делеције CDKN2A која указује на малигну трансформацију и потенцијално агресивно биолошко понашање менингиома.

Повећање експресије SA- β -GAL у менингиомима градуса 2 је, према нашим сазнањима, први пут детектовано у ткиву менингиома, док су ранија истраживања (Yamamoto M et al. Neurooncol Adv 2021) ову појаву детектовала у културама ћелија менингиома. Ова сазнања указују на могућност примене сенолитичке терапије у нересектабионим менингиомима (Robbins PD et al. Annu Rev Pharmacol Toxicol 2021).

Одсуство статистички значајне промене експресије p21 у менингиомима градуса 1, 2 и 3, описано у овој дисертацији је у складу са ранијим истраживањима (Kim MS, J Neurosurg 2024).

Позитивна корелација SA- β -GAL и p16 са митотском активношћу би могла делимично бити објашњена сазнањима бројних научних радова, да ћелије у којима је активирана сенесценција могу да заобиђу стање иреверзибилног заустављања ћелијског циклуса и последично активирају ћелијски циклус (Dong Z et al., Mol Cancer. 2024, Saleh T et al. Cancer Res 2016).

Релативно ниска експресија SUFU у ткиву менингиома свих градуса би се могла објаснити резултатима ранијих истраживања, у којима је детектована делеција дугог крака хромозома 10 (на коме се налази ген који кодира SUFU) у око 10% менингиома, који може узроковати губитак експресије овог протеина у менингиомима (Wang JZ, J Neurooncol 2023).

Одсуство разлике у експресији GLI2 између менингиома различитих градуса је уочено у ранијим истраживањима (Laurendeau I, Mol Med 2010) у којима је коришћена метода реакције ланчане полимеризације, а верификована је у резултатима ове дисертације методом имунохистохемије.

Статистички значајне разлике у експресији GLI3 између менингиома градуса 1 и 2, као и градуса 1 и 3, заједно са статистички значајном позитивном корелацијом између броја митоза и експресије GLI3 у ткиву менингиома указују на значај овог протеина у прогресији менингиома у виши градус. Ови резултати су, према нама доступној литератури, по први пут препознати. Испитивањем разлика у експресији GLI3 између менингиома конвекситета, базе лобање и спиналних менингиома су уочене статистички значајне разлике, али не и највећа експресија овог протеина код менингиома базе

лобање, што је уочено у ранијим истраживањима, а што би се могло објаснити разликама у канонским и неканонским путевима активације *Hedgehog* сигналног пута (Pietrobono S, Front Genet 2019).

Статистички позитивне корелације између GLI2 и GLI3, као и између SUFU и GLI2 у резултатима истраживања ове дисертације указују на интензивну интеракцију ових елемената *Hedgehog* сигналног пута, што указује да би промена потенцијалне анти GLI2, анти GLI3 и анти SUFU терапије могли имати ланчани ефекат, који би потенцијално позитивно утицао на исход терапије (Wen SY, Oncogene 2015).

Статистички значајно повећање експресије GLI3 у менингиомима мушкараца, у односу на менингиоме жена је према нама доступној литератури описано по први пут и могао би да буде још један од објашњења добро познате честе појаве агресивног биолошког понашања менингиома мушкараца (Armocida D., World Neurosurg 2024).

Е) Објављени радови који чине део докторске дисертације

1. **Mijajlović V**, Miler M, Ilić R, Rašić D, Dunderović D, Raičević S, Soldatović I, De Luka S, Manojlović-Gačić E. Oncogene-induced senescence in meningiomas-an immunohistochemical study. J Neurooncol. 2024 Jan;166(1):143-153. doi: 10.1007/s11060-023-04532-y. Epub 2023 Dec 20. PMID: 38117375.
2. **Mijajlović V**, De Luka S, Manojlović-Gačić E. Senescencija: definicija, mehanizmi nastanka i detekcija u tkivima. Medicinski podmladak 2024. DOI 10.5937/mp75-46623

Ф) Закључак (образложење научног доприноса)

Докторска дисертација кандидата др Владимира Мијајловића, под насловом „Испитивање улоге сенесценције и елемената *Hedgehog* сигналног пута у менингиомима“ представља оригиналан и савремен научни рад. Резултати овог истраживања доприносе расветљавању улоге активације сенесценције и елемената *Hedgehog* сигналног пута на пораст градуса менингиома. Резултати ове докторске дисертације указују на дијагностички и прогностички значај примене p16 и GLI3 у менингиомима методом имунохистохемије, где би смањење експресије p16 и повећање експресије GLI3 указивали на виши градус и агресивније биолошко понашање нарочито код нересектабилних менингиома. Поред тога, повећање експресије GLI3 у менингиомима мушкараца пружа потенцијално објашњење агресивијег биолошког понашања менингиома мушкараца и отвара могућност за даља истраживања нових терапијских приступа. Такође, ова студија говори у прилог активације процеса сенесценције код менингиома градуса 2 као једног од потенцијалних механизма заустављања даље прогресије менингиома у виши градус.

Ова докторска дисертација је урађена у складу са савременим принципима научног истраживања. Циљеви су били јасно дефинисани, научни приступ је био оригиналан и пажљиво структурисан, а методологија рада је била савремена. Резултати су прегледно и систематично приказани и дискутовани, а из њих су изведени одговарајући закључци.

На основу свега наведеног, и имајући у виду досадашњи научни рад кандидата, комисија предлаже Научном већу Медицинског факултета Универзитета у Београду да прихвати докторску дисертацију др Владимира Мијајловића и одобри његову јавну одбрану ради стицања академске титуле Доктора медицинских наука.

У Београду, 23.12.2024.

Чланови Комисије:

Проф. др Светислав Татић

Проф. др Јелена Нешовић Остојић

Проф. др Марина Никитовић

Проф. др Владимир Башчаревић

Проф. др Иван Чапо

Ментор 1:

Проф. др Силвио Де Лука

Ментор 2:

Проф. др Емилија Манојловић Гачић
