

**НАСТАВНО НАУЧНОМ ВЕЋУ МЕДИЦИНСКОГ ФАКУЛТЕТА
УНИВЕРЗИТЕТА У БЕОГРДУ**

На седници **Наставно-научног већа** Медицинског факултета у Београду, одржаној дана 17.03.2026. године, број: 7/XIV-3/3-ММ, именована је комисија за оцену завршене докторске дисертације под насловом:

„Генетичке промене у промоцији и прогресији тумора мозга глијалног порекла“

кандидата др Марине Милић, запослене у Клиници за неурохирургију,
Универзитетског клиничког центра Србије.

Име и презиме ментора	Звање	Научна област	Установа у којој је запослен
др Владимир Башчаревић	Професор	Неурохирургија	МФУБ
др Никола Танић	Научни саветник	Молекуларна биологија	ИБИСС

Комисија за оцену завршене докторске дисертације именована је у саставу:

Име и презиме члана комисије	Звање	Научна област	Установа у којој је запослен
др Данило Радуловић	Професор	Неурохирургија	МФУБ
др Владимир Јовановић	Професор	Неурохирургија	МФУБ
др Војин Ковачевић	Професор	Неурохирургија	ФМН Крагујевац

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

ИЗВЕШТАЈ

А) Приказ садржаја докторске дисертације

Докторска дисертација др Марине Милић написана је на укупно 129 страна и подељена је на следећа поглавља: увод, циљеви истраживања, материјал и методе, резултати, дискусија, закључци и литература. У дисертацији се налази укупно 32 табеле и 45 слика.

Докторска дисертација садржи сажетак на српском и енглеском језику, биографију кандидата, податке о комисији и списак скраћеница коришћених у тексту.

У **уводу** су дефинисани тумори, и описане њихове основне карактеристике и механизми настанка. Описане су мутације и фамилијарни синдроми. Објашњени су теорија клоналне еволуције тумора, мутатор фенотип и геномска нестабилност. Такође су описане матичне ћелије тумора мозга, онкогени, тумор-супресорски гени и гени за поправку ДНК, као и сигнални путеви укључени у канцерогенезу, са посебним освртом на ПИЗК/Акт/мТОР и Рас/МАПК сигнални пут, који су посебно значајни за настанак глијалних тумора мозга. Детаљно је описан и цАМП сигнални пут и гени ХТР4 и ПДЕ4Д који кодирају протеине који су део овог сигналног пута.

Наведено је последње, пето издање Класификације тумора централног нервног система Светске здравствене организација које унапређује улогу молекуларне дијагностике у класификацији ових тумора, уз већ постојећу класификацију на основу патохистолошких и имунохистохемијских налаза.

Детаљно су описани глијални тумори мозга тј. њихова епидемиологија, клиничка слика и неурорадиолошка и патохистолошка дијагноза. Посебан акценат је стављен на молекуларну дијагнозу тј. кључне гене и молекуларне путеве који имју улогу у настанку глијалних и глионеуроналних тумора, на основу којих је извршена последња Класификација тумора централног нервног система Светске здравствене организације.

Описани су сви модалитети лечења глиома као што су оперативни третман, хемиотерапија и радиотерапија, прогноза и преживљавање ових пацијената.

Циљеви рада су прецизно дефинисани. Састоје се од анализе микросателитске (МИН), хромозомске (ЦИН) и укупне геномске нестабилност (ГИ), и протеинског експресионог статуса ХТР4 и ПДЕ4Д гена глијалних тумора мозга различитих типова и градуса, како бисмо разумели да ли ови биомаркери могу представљати алат за њихову биолошку стратификацију. Такође, циљ је и утврђивање њихове међусобне везе, њихове корелације са демографским, клиничким, патохистолошким параметрима и терапијом, као и њихов утицај на преживљавање. Анализиран је и мутациони статус ХТР4 и ПДЕ4Д гена, и повезаност мутација ових гена са нивоом њихове протеинске експресије. Ово је урађено како би утврдили допринос ХТР4 и ПДЕ4Д гена у иницијацији, промоцији и прогресији

тумора мозга глијалног порекла, као и да ли неки од ових анализираних гена може бити молекуларни маркер дијагнозе и прогнозе ових тумора.

У поглављу **материјал и методе** је наведено да се ради о истраживању које је спроведено као проспективна, експериментална студија пацијената са хистолошки потврђеним глијалним туморима мозга, која је спроведена у Клиници за неурохирургију Универзитетског клиничког центра Србије. Узорци туморског ткива и крви су прикупљени од пацијента којима је хируршким путем ресециран тумор мозга, након добијања дозволе Етичког одбора Универзитетског клиничког центра Србије, а у складу са етичким стандардима Хелсиншке декларације из 1964. године, и након добијања сагласности пацијената или њихових старатеља. Геномска ДНК је изолована из туморског ткива и крви свих пацијената, и урађено је ДНК профилисање методом АП-ПЦР на Институту за биолошка истраживања „Синиша Станковић“, након добијања сагласности директорке, по протоколима који су детаљно описани. Парови ДНК профила туморског и контролног здравог ткива (крви) сваког пацијента су анализирани, како би се уочиле разлике. Јасно су дефинисане квалитативне (МИН) и квантитативне (ЦИН) промене, као и укупна геномска нестабилност (тотал ГИ). Урађена је имунохистохемијска анализа 5-ХТР4 и ПДЕ4Д у туморском ткиву и процењен ниво протеинске експресије скоровима који су детаљно описани. Анализиран је мутациони статуса ХТР4 и ПДЕ4Д гена одређен методом секвенцирања нове генерације (НГС). Карактеристике пацијената које су анализирани су: пол, старост, пушачки статус, тип, градус и категорија тумора, примена радио и хемиотерапије и статус исхода. Статистичка анализа је спроведена у више комплементарних корака.

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

Дискусија је написана јасно и прегледно, уз приказ података других истраживања са упоредним прегледом добијених резултата докторске дисертације.

Закључци сажето приказују најважније налазе који су проистекли из резултата рада. Коришћена **литература** садржи списак од 349 референци.

Б) Провера оригиналности докторске дисертације

Коришћењем програма iThenticate којим је извршена провера оригиналности докторске дисертације утврђен је проценат подударности текста тј. Симилярити индекс

10%. Овај степен подударности произилази из употребе стандардизованих стручних термина, личних имена, адекватно наведених цитата и библиографских података, описа примењене методологије, као и делова текста који се односе на раније публикован рад докторандкиње, који је проистекао из њене дисертације, што је у складу са чланом 9. Правилника о поступку провере оригиналности докторских дисертација које се бране на Универзитету у Београду („Гласник Универзитета у Београду“, број 204/18).

Ц) Кратак опис постигнутих резултата

Фреквенце квалитативних промена су биле у опсегу од 0.044697 до 0.433814, квантитативних од 0.079119 до 0.304557, а укупних ДНК промена од 0.13226 до 0.660546. За сваки маркер (МИН тотал, ЦИН тотал и Тотал ГИ) израчунате су: просечна вредност (мин), средња вредност (медиан) и кластер, при чему су пацијенти сврстани у нижу и вишу групу. МИН и ЦИН су детектоване код свих глијалних тумора, свих хистолошких типова и градуса. Оне јасно диференцирају пацијенте према степену МИН и ЦИН, и снажно су међусобно повезане. Није доказана повезаност МИН са клиничким и демографским параметрима, терапијом, типом тумора, експресијом 5-ХТР4 и ПДЕ4Д и статусом исхода. Категорија тумора (нискоградусни глиом/високоградусни глиом) је једини патохистолошки налаз од значаја. Виши МИН тотал (кластер и мин) је значајно чешћи код нискоградусних, него код високоградусних глиома. У случају МИН тотал медиан, постоји тренд ка вишим вредностима у групи нискоградусних глиома, али без статистичке потврде. ЦИН тотал је такође демографски, клинички и хистолошки потпуно неутралан. На нивоу ЦИН тотал кластер, експресија ПДЕ4Д је на граници статистичке значајности, а на нивоу ЦИН тотал мин, близу статистичког значаја, поред ПДЕ4Д експресије је и тип тумора. Иако пацијенти са вишим ЦИН тотал (кластер, медиан и мин) имају тренд лошијег преживљавања, прогностичка разлика није статистички потврђена. Тотал ГИ (кластер, медиан и мин) представља најробустнији биолошки маркер у комплетној анализи, који прецизно раздваја пацијенте према степену укупне ГИ тј. биолошком профилу тумора. Биомаркери МИН тотал и ЦИН тотал у свим мерама (мин, медиан, кластер) доследно и изразито прате вишу Тотал ГИ групу. Старост, пушење, тип, категорија и градус тумора, терапије и ПДЕ4Д експресија, не показују статистичку значајност. Једина клиничка значајна варијабла је пол, на нивоу Тотал ГИ кластер. Мушки пол је чешћи у нижој Тотал ГИ групи, а женски у вишој. На нивоу Тотал ГИ медиан и мин, пол је близу статистичког значаја и прати тренд. Расподела типова тумора се разликује на граници значајности. Виша Тотал ГИ група има релативно већи

удео глиобластома и мањи удео олигодендроглиома у односу на нижу Тотал ГИ групу. Статистички значајна разлика се добија на нивоу статуса исхода (догађај/цензуриран). У вишој групи је знатно више догађаја, него у нижој. Каплан-Мајер криве потврђују лошији исход у вишој Тотал ГИ мин групи. Резултати имунохистохемијске анализе експресије протеина су показали доминантно ниску експресију 5-ХТР4 и ПДЕ4Д. У односу на ниво експресије ових протеина, пацијенти су подељени у две групе (ниску и високу). Експресија 5-ХТР4 не диференцира пацијенте по полу, старости и преживљавању, континуалним вредностима МИН тотал, ЦИН тотал и Тотал ГИ, типу, категорији и градусу тумора, као и терапијама. Постоји умерен, али конзистентан помак високе експресије 5-ХТР4 ка вишем Тотал ГИ профилу, који постаје значајан тек на нивоу Тотал ГИ кластер. На нивоу Тотал ГИ мин и медиан је тренд. То значи да је висока протеинска експресија ХТР4 гена чешћа у групи пацијената са вишом укупном ГИ. ПДЕ4Д је такође демографски, клинички и хистолошки потпуно неутралан. Показано је да је висока протеинска експресија ПДЕ4Д гена, чешћа у групи пацијената са вишом укупном ГИ и вишом ЦИН. Каплан-Мајер анализа показује тренд краћег преживљавања у групи пацијената са високом ПДЕ4Д, уз постојање више догађаја у високој групи, али без статистичке тежине. Најважнији налаз ове анализе је снажна и статистички јасна повезаност високе експресије 5-ХТР4 са високом експресијом ПДЕ4Д. Резултати НГС-а су показали да су сви пацијенти имали неку варијанту у ХТР4 и у ПДЕ4Д гену, које су углавном некодирајуће, регулаторне. У ПДЕ4Д гену мисенсе мутације су идентификоване само код 3 пацијента.

Д) Упоредна анализа докторске дисертације са резултатима из литературе

У литератури је доступно мало информација о ГИ код глиома, а подаци из литературе су контраверзни. У овој докторској дисертацији, показали смо присуство МИН и ЦИН истовремено код свих пацијената са глиомима мозга, различитих типова и градуса, као и да је виша ЦИН чешћа код пацијената са вишом МИН. Показано је да је висока МИН чешћа код нискоградусних, него код високоградусних глиома, што подржава теорију клоналне еволуције да се степен ГИ смањује са прогресијом тумора мозга у виши градус. Према неким студијама оштећење ММР система, које је најчешћи узрок МИН, је ретко код глиома (Рајендиран и др, 2025). У другим студијама су идентификовани пацијенти са глиомима мозга који показују оштећење ММР система, али без функционалних последица на поправку двоструког ланца ДНК. Такође, доказан је виши ниво МИН код педијатријских глијалних тумора, у односу на глијалне туморе одраслих (Виана-Переира

и др, 2011). Насупрот томе, у другим истраживањима је примећена мања инциденца МИН код педијатријских високоградусних глиома (Екерт и др, 2007). Тепеоглу и сарадници (2019) су такође проучавали МИН код глиома мозга, али нису доказали значајну везу између експресије ММР протеина и стопе рецидива тумора и укупног преживљавања пацијената са глиобластомом (ГБМ). МИН је главно обележје тумора мозга који се јављају код Линчевог синдрома, што указује на улогу МИН у њиховом настанку (Леклерк и др, 2021). У овој докторској дисертацији пацијенти са вишом ЦИН су имали тренд лошијег преживљавања. ЦИН има кључну улогу у настанку глиома и њихове хетерогености, њиховој прогресији, рецидивирању, резистенцији на терапију и лошем клиничком исходу (Мацолени и др, 2024; Зенг и др, 2023). Лоша прогноза ГБМ и резистенција на терапију може бити повеза са ЦИН (Балзано и др, 2022). Парадоксално, прекомерна ЦИН може довести до смрти ћелија канцера (Хосеа и др, 2024). Спур и сарадници (2024) су такође доказали да је ЦИН свеprisутна код високоградусних глиома, али нису успели да докажу њен утицај на преживљавање ових пацијената. Насупрот томе, друга студија је доказала да је код пацијената са ГБМ који су дуже живели, двоструко виша ЦИН у поређењу са онима који су краће живели (Беренс и др, 2014; Пенг и др, 2016). У оквиру синдрома хромозомске нестабилности које одликује предиспозиција ка ЦИН могу да се јаве различити тумори мозга, па и глиоми, што указује да ЦИН итекако има улогу у њиховом настанку (Реји и др, 2022). Укупна ГИ представља збир МИН и ЦИН, и у нашој кохорти готово савршено раздваја пацијенте према биолошком профилу тумора.

Показали смо да се глиоми мозга, код којих постоји виши степен укупне ГИ, чешће јављају код жена, него код мушкараца, што потенцијално може утицати на различито преживљавање мушкараца и жена. Такође, показано је да пацијенти са високом укупном ГИ имају краће време преживљавања, а да само МИН или само ЦИН нису утицале на преживљавање, што показује да укупна ГИ даје агресивнији биолошки профил. И друге студије су показале да пацијенткиње имају већу ГИ (Роси и др, 2024). Јанг и сарадници (2024) су доказали да ГБМ који се јављају код жена имају виши степен ГИ. Анализа транскриптома ГБМ показала је различиту експресију различитих гена код мушкараца и жена, што потенцијално може утицати на различито преживљавање у односу на пол (Јованович и др, 2024). Улога ГИ у настанку и прогресији рака веома сложена и зависна од контекста (Реквејнс и др, 2024). Чен и сарадници (2022) су конструисали скор ризика од 9 гена изведених из ГИ, који је могао предвидети прогнозу пацијената са ГБМ. Висока

ГИ је карактеристична за астроцитоме, ИДХ-мутант, а ниска за ГБМ, ИДХ-дивљи тип. У току прогресије астроцитоме, ИДХ-мутанта, ГИ се смањује (Адемовић и др, 2025). Милинковић и сарадници (2012) су такође закључили да нижи степен ГИ представља потенцијални биомаркер за детекцију секундарних ГБМ.

У овој докторској дисертацији резултати имунохистохемијске анализе експресије протеина су показали да су се нивои 5-ХТР4 и ПДЕ4Д значајно разликовали међу пацијентима, и указали су на њхову доминантно ниску експресију. Најважнији резултат ове анализе је да су пацијенти са високом експресијом 5-ХТР4, имали високу експресију ПДЕ4Д, и обрнуто, пацијенти са ниском експресијом 5-ХТР4 су имали ниску експресију ПДЕ4Д. Такође, висока протеинска експресија ХТР4 и ПДЕ4Д гена је чешћа у групи пацијената са вишом укупном ГИ и ЦИН, што значи да оне утичу на регулацију генске експресије, и да мутација ХТР4 и ПДЕ4Д гена могу бити или последица или индикатор високе ГИ. У нашој студији сви пацијенти су имали бар неку варијанту у ХТР4 и у ПДЕ4Д гену, и то углавном некодирајуће, регулаторне секвенце. У ПДЕ4Д гену детектоване су само 3 мисенс мутације. Показан је јасан тренд краћег преживљавања у групи пацијената са високом експресијом ПДЕ4Д. Милинковић и сарадници (2013) су доказали висок ниво ГИ код глиома, као и већи степен мутација ХТР4 гена код анапластичних астроцитоме и млађих пацијената. Лиу и сарадници (2024) су низак ниво експресије 5-ХТР4 нашли и код нискоградусних и код високоградусних глиома. У разним експерименталним студијама је доказан висок ниво експресије ПДЕ4 гена код глиома мозга, а доказан је и у току њихове прогресије, што резултира краћим временом преживљавања и лошијим исходом. Инхибиција ПДЕ4 доводи до супротног ефекта (Голдхоф и др, 2008, Ли и др, 2005, Мун и др, 2012, Оу и др, 2023, Сенгупта и др, 2011). Код ГБМ, промене у ПДЕ4Д гену су нађене код тумора који су п53-дивљи тип и п16-дивљи тип (Милинковић и др, 2013).

Е) Објављени радови који чине део докторске дисертације

1. Milić M, Ademović N, Manojlović Gačić E, Bašćarević V, Tanić N, Tanić N, Milić I. Protein Expression Status of HTR4 and PDE4D Genes in Glial Brain Tumors Followed by the Study of Genomic Instability. *Life*. 2026; 16(3):374. doi: 10.3390/life16030374. M21 ИФ 3,4

2. Milić M, Baščarević V i Tanić N. Uticaj ekspresije HTR i PDE4D gena na kontrolu cikličnog adenozin monofosfat signalnog puta i progresiju tumora mozga. Medicinski podmladak. doi: 10.5937/mp80-62126.

Ф) Одлуке Етичке комисије Факултета и остале неопходне етичке одлуке

Истраживање за докторску дисертацију др Марине Милић је спроведено уз сагласност Етичке Комисије Медицинског факултета Универзитета у Београду од дана 20.05.2021. године под бројем: 1322/V-6 и Етичкиг одбора Универзитетског клиничког центра Србије дана 24.03.2021. године, под бројем 111/5 и допуне дана 27.11.2025. године, под бројем 1787/71, као и уз сагласност директорке Института за биолошка истраживања „Синиша Станковић“ под бројем 01-489 дана 13.04.2021. године.

Г) Закључак (образложење научног доприноса)

Докторска дисертација „Генетичке промене у промоцији и прогресији тумора мозга глијалног порекла“ др Марине Милић, као једна од највећих експерименталних студија овог типа, представља оригинални научни допринос у разумевању патогенезе глијалних тумора мозга. Студија потврђује да комбинација микросателитске, хромозомске и укупне геномске нестабилности и 5-ХТР4 и ПДЕ4Д биомаркера, који чине модулаторну сигналну осу, представља снажан алат за разумевање патобиолошког спектра болести, биолошку стратификацију тумора и процену ризика. Укупна геномска нестабилност се може сматрати биомаркером глиома, прогностичким маркером агресивности тумора и клинички релевантним индикатором неповољног тока болести. Висока експресија 5-ХТР4 и ПДЕ4Д је доказана код тумора мозга са вишом укупном геномском нестабилношћу, што значи да она прати активацију серотонинских рецептора и путева, и ензима који имају улогу у сигналном путу цАМП, а да мутације ХТР4 и ПДЕ4Д гена могу бити или њени индикатори или последице, тј. да геномска нестабилност утиче на регулацију генске експресије. Један од најзначајнијих резултата ове студије је значајна повезаност експресије 5-ХТР4 и ПДЕ4Д. Пацијенти са високом експресијом 5-ХТР4 најчешће имају високу експресију ПДЕ4Д и обрнуто, што указује на чињеницу да ови модулаторни маркери припадају истој сигналној оси и да раде у истом биолошком смеру који је повезан са цикличним нуклеотидима и путем неуротрансмитера. Овом студијом се отвара простор за клиничку примену ових показатеља у идентификацији пацијената са вишим ризиком, планирању терапије и предвиђању исхода болести, као и за будућа истраживања која би могла додатно валидирати ове биомаркере.

Ова докторска дисертација је урађена према свим принципима научног истраживања. Циљеви су били прецизно дефинисани, научни приступ је био оригиналан и пажљиво изабран, 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 Марине Милић и одобри њену јавну одбрану ради стицања академске титуле доктора медицинских наука.

У Београду, 27.04.2026.

Чланови Комисије:

Проф. др Данило Радуловић

Ментор:

Проф. др Владимир Башчаревић

Коментор

Проф. др Владимир Башчаревић

Научни саветник др Никола Танић

Проф. др Војин Ковачевић
