

**НАСТАВНО-НАУЧНОМ ВЕЋУ МЕДИЦИНСКОГ ФАКУЛТЕТА
УНИВЕРЗИТЕТА У БЕОГРАДУ**

На седници Наставно-научног већа Медицинског факултета у Београду, одржаној дана 14.09.2026. године, Одлуком број 7/XIX-3/3-AP, именована је комисија за оцену завршене докторске дисертације под насловом:

„Разлике у експресији гена између лејомиосаркома и лејомиома материце на основу интегрисане биоинформатичке и имунохистохемијске анализе“

кандидата др Александра Д. Ракића, специјалисте гинекологије и акушерства, запосленог у Гинеколошко-акушерској клиници Народни фронт у Београду.

Ментори докторске дисертације:

Име и презиме ментора	Звање	Научна област	Установа у којој је запослен
др Лазар Нејковић	Доцент	Гинекологија и акушерство	МФУБ
др Данило Обрадовић	Доцент	Патологија	МФУБ
Јуре Празникар	Професор	Биоинформатика	Факултет за математику, природне науке и информационе технологије, Универзитет Приморска, Копер, Словенија

Комисија за оцену завршене докторске дисертације именована је у саставу:

Име и презиме члана комисије	Звање	Научна област	Установа у којој је запослен
др Александар Јуришић	Професор	Гинекологија и акушерство	МФУБ
др Катарина Стефановић	Професор	Гинекологија и акушерство	МФУБ
др Аљоша Мандић	Професор	Гинекологија и акушерство	МФ 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 докторске дисертације

Докторска дисертација др Александра Д. Ракића написана је на укупно 98 страна и подељена је на следећа поглавља: увод, циљеви истраживања, материјал и методе, резултати, дискусија, закључци и литература. У дисертацији се налази укупно 16 табела и 16 слика. Докторска дисертација садржи сажетак на српском и енглеском језику, захвалницу, садржај, податке о менторима и члановима комисије и биографију кандидата.

У **уводу** је дат свеобухватан приказ макроскопске анатомије и хистолошке грађе материце и класификације тумора тела материце. Детаљно су приказани лејомиосарком материце (епидемиологија и фактори ризика, клиничка слика, дијагностичке методе, хистопатолошка класификација и дијагностички критеријуми, стадирање, молекуларне и епигенетске карактеристике, терапија и прогноза) и лејомиоми материце (епидемиологија, класификација, клиничка слика, дијагноза, молекуларна патогенеза и терапија). Посебна пажња посвећена је могућностима и ограничењима разликовања ова два ентитета, укључујући клиничко и демографско преклапање, лабораторијске тестове, радиолошке методе, хистопатолошке и имунохистохемијске критеријуме, као и новије приступе засноване на вештачкој интелигенцији, машинском учењу и молекуларним испитивањима.

Увод систематично приказује и улогу биоинформатике у истраживању ретких мезенхималних тумора материце, принципе имунохистохемије и начине читавања и скоровања имунохистохемијске реакције, као и биологију ћелијског циклуса и ћелијске пролиферације као основу за избор маркера кандидата.

Циљеви истраживања су јасно и прецизно дефинисани и обухватају: идентификацију различито експримираних гена између лејомиосаркома и лејомиома материце интегрисаном биоинформатичком анализом; анализу функција и сигналних путева повезаних са идентификованим генима, укључујући њихову повезаност са преживљавањем пацијенткиња са лејомиосаркомом материце на основу података Атласа канцерског генома (TCGA) и валидацију различите експресије гена од интереса

имунохистохемијском анализом ткивних узорака пацијенткиња оперисаних због лејомиосаркома и лејомиома материце.

У поглављу **материјал и методе** описане су две методолошки различите, међусобно повезане фазе истраживања. У биоинформатичкој фази описани су претрага и селекција скупова података из базе Gene Expression Omnibus (GSE764, GSE36610, GSE64763, GSE68312 и GSE32507) и кохорте TCGA-SARC, идентификација диференцијално експримираних гена (ДЕГ) применом алата GEO2R, анализа генске онтологије (GO) и KEGG сигналних путева на платформи DAVID, конструкција мреже протеин–протеин интеракција (STRING, Cytoscape, MCODE) и издвајање hub гена методом Maximal Clique Centrality (CytoHubba), провера експресије hub гена и анализа укупног преживљавања и интервала без болести, мапирање транскрипционих фактора и микроРНК (NetworkAnalyst) и анализа мреже интеракција лек–ген. Јасно је образложен избор CCNE1 као кандидат-гена за валидацију на протеинском нивоу.

Валидациона имунохистохемијска фаза осмишљена је као ретроспективна студија пресека спроведена на Гинеколошко-акушерској клиници „Народни фронт“ у периоду од 1. јануара 2017. до 31. децембра 2023. године. Прецизно су дефинисани критеријуми за укључивање и искључивање пацијенткиња, начин прикупљања клиничких и патохистолошких података, селекција парафинских калупа и протокол имунохистохемијског бојења на циклин Е1 (клон EP126, Bio SB, разблажење 1:100) уз позитивне и негативне контроле. Очитавање је вршено применом адаптираног Алред скора (0–8) у пет видних поља великог увећања по пацијенткињи, засебно од стране два међусобно заслепљена патолога. Статистичка анализа је детаљно приказана и примерена хијерархијској структури података и малом броју случајева ретког тумора: ординална регресија са случајним пресеком на нивоу пацијенткиње, модел пропорционалних шанси са ridge пенализацијом и bootstrap узорковањем у случају квази-потпуне сепарације, интракласни корелациони коефицијенти и пондерисани карпа коефицијент, ROC анализа са Youden-овим индексом и Firth-ова пенализована логистичка регресија. Анализе су спроведене у програмима IBM SPSS Statistics 25, Python 3.10 и R 4.6.0.

У поглављу **резултати** детаљно су и прегледно приказани резултати обе фазе истраживања, уз 16 табела и 16 слика.

Дискусија је написана јасно, прегледно и критички, уз упоредну анализу добијених резултата са релевантним подацима из савремене литературе. Посебна

пажња посвећена је улози CCNE1/циклина E1 у регулацији G1/S прелаза, значају осталих hub гена, као и ограничењима спроведеног истраживања, која су наведена отворено и исцрпно.

Закључци сажето и логично приказују најважније налазе који су проистекли из резултата рада. Коришћена **литература** садржи списак од 199 референци.

Б) Провера оригиналности докторске дисертације

На основу Правилника о поступку провере оригиналности докторских дисертација које се бране на Универзитету у Београду („Гласник Универзитета у Београду“, број 204/18) и налаза у извештају из програма iThenticate, којим је извршена провера оригиналности докторске дисертације „Разлике у експресији гена између лејомиосаркома и лејомиома материце на основу интегрисане биоинформатичке и имунохистохемијске анализе“, аутора др Александра Д. Ракића, утврђено је да подударање текста износи 5%.

Овај степен подударности последица је претежно цитата, личних имена, библиографских података о коришћеној литератури, стандардне стручне и латинске терминологије, назива јавних база података, софтверских алата и лабораторијских поступака, тзв. општих места и општеприхваћених дефиниција и описа метода, као и претходно публикованих резултата истраживања кандидата који су проистекли из ове докторске дисертације, што је у складу са чланом 9. наведеног Правилника.

Наведена подударност је техничке и формалне природе и не доводи у питање оригиналност докторске дисертације. Комисија стога сматра да извештај указује на оригиналност докторске дисертације, те се прописани поступак припреме за њену одбрану може наставити.

Ц) Кратак опис постигнутих резултата

Интегрисаном биоинформатичком анализом идентификовано је 57 заједничких ДЕГ између лејомиосаркома и нормалног миометријума (GSE764, GSE36610, GSE64763 и GSE68312) и 162 заједничка ДЕГ између лејомиосаркома и лејомиома материце (GSE764 и GSE64763), при чему је 41 ген био заједнички за оба поређења. Додатним пресеком са ДЕГ из поређења лејомиосаркома и карциносаркома материце (GSE32507) издвојена су два гена, ATRX и PTGER3, оба са сниженом експресијом. Функционалном анотацијом показано је да су идентификоване промене претежно

повезане са регулацијом ћелијског циклуса и пролиферације, метаболизмом нуклеотида, хормонском сигнализацијом и ремоделовањем екстрацелуларног матрикса, док је најзначајнији KEGG пут у поређењу лејомиосаркома и нормалног миометријума био „Transcriptional misregulation in cancer“.

Конструисана мрежа протеин–протеин интеракција обухватила је 30 чворова и 52 гране, а издвојено је десет hub гена: шест са повишеном експресијом (TYMS, FOXM1, MMP9, CCNE1, CKS2 и TK1) и четири са сниженом експресијом (ESR1, CTGF, IGF1 и TGFBR2). У TCGA-SARC кохорти виша експресија TK1 и TYMS била је значајно повезана са краћим укупним преживљавањем, а нижа експресија TK1 са дужим интервалом без болести. Анализом регулаторних мрежа издвојени су транскрипциони фактор SP1, повезан са седам hub гена, и miR-26a-5p и miR-26b-5p као најзначајније микроРНК, док је мрежа интеракција лек–ген била концентрисана око TYMS, уз идентификовану повезаност са гемцитабином.

У валидационој имунохистохемијској фази, од 72 пацијенткиње које су испуниле критеријуме за укључивање, адекватан архивски ткивни материјал био је доступан за 61 пацијенткињу (16 са лејомиосаркомом и 45 са лејомиомом материце). Пацијенткиње са лејомиосаркомом биле су значајно старије (медијана 61 наспрам 41 године; $p < 0,001$) и чешће постменопаузалне (75,0% наспрам 0%; $p < 0,001$), док се величина тумора није значајно разликовала између група.

Експресија циклина E1 била је значајно виша у лејомиосаркому него у лејомиому материце. Медијана комбинованог Алред скорa на нивоу пацијенткиње износила је 6 (IQR 5–6) наспрам 2 (IQR 0–3) ($p < 0,001$), а у моделу ординалне регресије са ridge пенализацијом поља лејомиосаркома имала су значајно веће шансе за припадност вишој Алред категорији (OR 43,4; 95% CI 13,7–331,2; $p < 0,001$). Слагање два независна патолога било је одлично (ICC 0,93 на нивоу поља и 0,94 на нивоу пацијенткиње; пондерисани карра 0,93, односно 0,94).

ROC анализом на нивоу пацијенткиње добијена је површина испод криве од 0,941 (95% CI 0,875–0,990). При граничној вредности Алред скорa ≥ 4 , сензитивност је износила 93,8% (15/16), специфичност 84,4% (38/45), позитивна предиктивна вредност 68,2% и негативна предиктивна вредност 97,4%. Контролна анализа на нивоу појединачних поља дала је сагласан резултат (AUC 0,933; 95% CI 0,866–0,984), а дискриминација је остала висока и при конзервативном скоровању (AUC 0,882). Кандидат јасно наводи да је гранична вредност одређена и процењена у истој кохорти и

да наведене показатеље треба сматрати експлораторним до потврде у независној кохорти.

Униваријантном Firth-овом логистичком регресијом као значајно повезани са дијагнозом лејомиосаркома издвојени су старост, постменопаузални статус и гравидитет, док је у мултиваријантном моделу само постменопаузални статус остао независно повезан са дијагнозом. Паритет, величина тумора и појединачни преоперативни симптоми нису били значајни предиктори.

Д) Упоредна анализа докторске дисертације са резултатима из литературе

Добијени резултати у складу су са савременим схватањем да се лејомиосарком и лејомиом материце разликују на нивоу више међусобно повезаних биолошких процеса, а не на нивоу експресије једног гена. Издвајање FOXM1, CCNE1 и CKS2 међу генима са повишеном експресијом сагласно је са ранијим интегрисаним молекуларним анализама, укључујући истраживање Zang и сарадника, у коме су CCNE1 и FOXM1 такође издвојени као гени од интереса код лејомиосаркома материце, као и са резултатима интегрисане геномске и транскриптомске анализе Currens и сарадника.

Имунохистохемијски налази допуњују оскудну литературу о експресији циклина E1 у глаткомишићним туморима материце. Ранија истраживања Zhai и сарадника, Hayashi и сарадника и Watanabe и сарадника указала су на вишу експресију циклина E код лејомиосаркома у односу на бенигне глаткомишићне туморе, док су Tanabe и сарадници предложили дијагностички панел који комбинује циклин E1, LMP2/β1i и Ki-67. Ова дисертација доприноси наведеним сазнањима применом унапред дефинисаног протокола читавања у пет видних поља по пацијенткињи, засебним читавањем два заслепљена патолога уз формалну процену слагања и статистичким приступом који уважава хијерархијску структуру података, чиме се делимично превазилази хетерогеност начина процене експресије која отежава поређење досадашњих студија.

Налази о TK1 и TYMS сагласни су са подацима о прогностичком значају ових ензима код солидних тумора, док издвајање ATRX као једног од два гена заједничка за сва три поређења одговара подацима о честим променама ATRX/DAXX осе код лејомиосаркома материце. Снижена експресија ESR1 у складу је са литературним подацима о губитку хормонске зависности у малигним глаткомишићним туморима, а издвајање MMP9 са подацима о значају ремоделовања екстрацелуларног матрикса за инвазивност тумора.

Резултати дисертације потврђују да преоперативно клиничко разликовање лејомиосаркома и лејомиома остаје непоуздано, што је у складу са литературом, и указују да циклин Е1 може представљати кандидат за допунски имунохистохемијски маркер, али не и самосталан дијагностички тест.

Е) Објављени радови који чине део докторске дисертације

Rakić A, Anicic R, Rakic M, Nejkovic L. Integrated Bioinformatics Investigation of Novel Biomarkers of Uterine Leiomyosarcoma Diagnosis and Outcome. *J Pers Med.* 2023;13(6):985. doi: 10.3390/jpm13060985. **M21 IF 3,0**

Rakić A, Nejković L, Opić D, Đorđević A, Rakić M, Jurišić A, Obradović D. Comparative Analysis of Cyclin E1 Expression in Uterine Leiomyosarcomas and Leiomyomas. *Diseases.* 2026;14(9):324. doi: 10.3390/diseases14090324. **M22 IF 3,7**

Rakić A, Nejković L, Obradović D. Preoperative differentiation of leiomyosarcomas from benign tumors and other uterine corpus malignancies. *Medicinski podmladak.* 2028;79(2). doi: 10.5937/mp79-54587. Ahead of print.

Ф) Одлуке Етичке комисије Факултета и остале неопходне етичке одлуке

Истраживање за докторску дисертацију др Александра Д. Ракића спроведено је уз сагласност Етичке комисије Медицинског факултета Универзитета у Београду од дана 27.01.2026. под бројем 20/I-2 и Етичког одбора Гинеколошко-акушерске клинике „Народни фронт“, под бројем 2208-2023-025488, уз одобрење директора Гинеколошко-акушерске клинике „Народни фронт“ (број 2209-2023-023451/4). Имунохистохемијске анализе спроведене су на Институту за патологију Медицинског факултета Универзитета у Београду, уз одобрење управника Института од 26.11.2024. године.

Г) Закључак (образложење научног доприноса)

Докторска дисертација „Разлике у експресији гена између лејомиосаркома и лејомиома материце на основу интегрисане биоинформатичке и имунохистохемијске анализе“ др Александра Д. Ракића представља оригиналан научни допринос у области гинеколошке онкологије. Истраживање је интердисциплинарно постављено и обједињује анализу јавно доступних транскриптомских података са валидацијом на протеинском нивоу у засебном клиничком ткивном материјалу, што је методолошки

примерен одговор на реткост лејомиосаркома материце, због које је спровођење великих проспективних студија откривања биомаркера изузетно отежано.

Посебан допринос дисертације огледа се у остварењу транслационог прелаза од идентификације кандидат-гена у јавно доступним подацима до његове провере у клиничкој кохорти, применом унапред дефинисаног протокола читавања, независне процене два заслепљена патолога и статистичких модела који уважавају хијерархијску структуру података. Клинички значај дисертације огледа се у идентификацији циклина E1 као кандидата за допунски имунохистохемијски маркер у разликовању лејомиосаркома и лејомиома материце, као и у издвајању TK1 и TYMS као кандидата за даља прогностичка испитивања. Кандидат при томе јасно и критички наводи ограничења истраживања и не приписује добијеним налазима значај самосталног дијагностичког теста.

Ова докторска дисертација урађена је према свим принципима научног истраживања. Циљеви су били прецизно дефинисани, научни приступ оригиналан и пажљиво изабран, а методологија рада 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 Научно-наставном већу Медицинског факултета Универзитета у Београду да прихвати докторску дисертацију др Александра Д. Ракића и одобри њену јавну одбрану ради стицања академске титуле доктора медицинских наука.

У Београду, 07.10.2026.

Чланови Комисије:

Проф. др Александар Јуришић

Проф. др Катарина Стефановић

Проф. др Аљоша Мандић

Ментори:

Доц. др Лазар Нејковић

Доц. др Данило Обрадовић

Проф. Јуре Пражњикар
