

NASTAVNO NAUČNOM VEĆU MEDICINSKOG FAKULTETA UNIVERZITETA U BEOGRADU

Na sednici Nastavno-naučnog veća od 26.01.2023. godine, broj 14/XII-2/3-HB, imenovana je Komisija za ocenu završene doktorske disertacije kandidata dr Boričić Novice, zaposlenog na Institutu za patologiju Medicinskog fakulteta Univerziteta u Beogradu, pod nazivom „**DIJAGNOSTIČKI ZNAČAJ EKSPRESIJE CITOKERATINA VISOKE MOLEKULARNE TEŽINE I NISKE MOLEKULARNE TEŽINE U SKVAMOCELULARNOM KARCINOMU LARINKSA I BENIGNIM LEZIJAMA LARINKSA**“. Mentor doktorske disertacije je prof. dr Tatjana Terzić, vanredni profesor na Katedri za patologiju Medicinskog fakulteta Univerziteta u Beogradu.

U Komisiju su imenovani:

1. Prof. dr Jovica Milovanović, Medicinski fakultet Univerziteta u Beogradu.
2. Prof. dr Biserka Vukomanović Đurđević, Medicinski fakultet Vojnomedicinske Akademije, Univerzitet odbrane u Beogradu.
3. Prof. dr Duško Dunderović, Medicinski fakultet Univerziteta u Beogradu.

Na osnovu analize priložene doktorske disertacije, komisija za ocenu završene doktorske disertacije jednoglasno podnosi Naučnom veću Medicinskog fakulteta sledeći

I Z V E Š T A J

A) PRIKAZ SADRŽAJA DOKTORSKE DISERTACIJE

Doktorska disertacija dr Novice Boričića „**DIJAGNOSTIČKI ZNAČAJ EKSPRESIJE CITOKERATINA VISOKE MOLEKULARNE TEŽINE I NISKE MOLEKULARNE TEŽINE U SKVAMOCELULARNOM KARCINOMU LARINKSA I BENIGNIM LEZIJAMA LARINKSA**“ napisana je na 124 strane A4 formata i sadrži 50 tabela i 51 sliku. Podeljena je na sledeća poglavlja: uvod, ciljevi istraživanja, materijal i metode, rezultati, diskusija, zaključak i literatura. Doktorska disertacija sadrži i sažetak na srpskom i engleskom jeziku, biografiju kandidata i podatke o komisiji.

U **uvodu** su opisane osnovne anatomske i embriološke karakteristike larinksa, ukratko je opisan istorijat tumora larinksa, opisane su epidemiološke, patogenetske, kliničke i patohistološke karakteristike i načini lečenja polipa larinksa, papiloma larinksa, papilarne keratoze larinksa, displazija larinksa visokog i niskog gradusa i skvamocelularnog karcinoma larinksa. Detaljno su opisane karakteristike, uloge, dijagnostički i prognostički značaj citokeratina CK8, CK10, CK13 i CK17 u različitim tumorima i benignim lezijama. Naglašeno je da nema dovoljno podataka u literaturi o značaju citokeratina CK8, CK10, CK13 i CK17 u dijagnostici benignih i malignih lezija larinksa. **Ciljevi rada** su precizno formulisani. Definisani su sledeći ciljevi: 1) Ispitivanje i poređenje ekspresije citokeratina CK8, CK10, CK13 i CK17 u skvamocelularnom karcinomu larinksa i benignim lezijama larinksa (polip larinksa, papilom larinksa i keratosis papilaris laryngis, displazije epitela

larinksa). 2) Ispitivanje ekspresije citokeratina CK8, CK10, CK13 i CK17 u epitelu oko tumora i utvrđivanje da li se ekspresija navedenih citokeratina može koristiti za određivanje statusa linija resekcije. 3) Ispitivanje povezanosti ekspresije citokeratina CK8, CK10, CK13 i CK17 sa stadijumom tumora, gradusom tumora i dubinom invazije tumora. 4) Ispitivanje povezanosti ekspresije citokeratina CK8, CK10, CK13 i CK17 sa prisustvom metastaza skvamocelularnog karcinoma larinksa u limfnim čvorovima.

U poglavlju **materijal i metode** je navedeno da su u istraživanje bila uključena 163 pacijenta podeljeno u tri grupe. U jednu grupu su bila uključena 83 pacijenta sa dijagnostikovanim skvamocelularnim karcinomom larinksa. Među njima se nalazi 39 pacijenata kojima je hirurški uklonjena glasnica i 44 pacijenta koja su podvrgnuta kompletnoj laringektomiji. Svim pacijentima sa dijagnozom skvamocelularnog karcinoma larinksa je određen TNM stadijum. U drugu grupu su bila uključena 52 pacijenta sa dijagnostikovanim benignim lezijama larinksa: 20 pacijenata sa dijagnostikovanim polipom larinksa, 20 pacijenata sa dijagnostikovanim papilomom larinksa, 12 slučajeva sa dijagnostikovanom papilarnom keratozom larinksa. U treću grupu je bilo uključeno 28 slučajeva sa dijagnostikovanom displazijom larinksa: 18 slučajeva sa displazijom larinksa visokog gradusa i 10 slučajeva sa displazijom larinksa niskog gradusa. Uzorci su prikupljeni sa Klinike za ORL i maksilofacijalnu hirurgiju Univerzitetskog kliničkog centra Srbije. U istraživanje su bili uključeni pacijenti koji su u periodu od 01.01.2010. do 31.12.2020. hirurški tretirani zbog skvamocelularnog karcinoma larinksa i benignih lezija (papiloma larinksa, polipa larinksa, papilarne keratoze larinksa i displazije larinksa) i koji imaju patohistološki dijagnostikovane lezije. Iz istorija bolesti pacijenata su bili prikupljeni podaci o polu, starosti pacijenata, lokalizaciji tumora, patohistološkom gradusu, veličini tumora, TNM stadijumu, prisustvu metastaza u limfnim čvorovima i broju limfnih čvorova sa metastazama. Jasno su definisani kriterijumi za uključivanje i isključivanje iz studije. Jasno je opisana priprema tkivnih uzoraka i precizno definisano skorovanje imunohistohemijske ekspresije CK8, CK10, CK13 i CK17. Opisane su i metode statističke analize dobijenih podataka. Istraživanje je sprovedeno uz saglasnost Etičke komisije Medicinskog fakulteta Univerziteta u Beogradu.

U poglavlju **rezultati**, detaljno su opisani i jasno predstavljeni svi dobijeni rezultati. Ilustrovani su velikim brojem tabela i slika, a predstavljeni su i rezultati statističke analize podataka.

Diskusija je napisana jezgrovito, jasno i pregledno, uz prikaz podataka drugih istraživanja sa uporednim pregledom dobijenih rezultata doktorske disertacije. Jasno su interpretirani dobijeni rezultati i diskutovan je njihov značaj u kontekstu patologije skvamocelularnog karcinoma larinksa, displazija larinksa i benignih lezija larinksa

Zaključci sažeto prikazuju najvažnije nalaze koji su proistekli iz rezultata rada.

U poglavlju **LITERATURA** citirane su 223 bibliografske jedinice iz referentnih međunarodnih i domaćih časopisa, uključujući i publikaciju kandidata.

B) Provera originalnosti doktorske disertacije

Na osnovu Pravilnika o postupku provere originalnosti doktorskih disertacija koje se brane na Univerzitetu u Beogradu i nalaza u izveštaju iz programa iThenticate kojim je izvršena provera originalnosti doktorske disertacije dr Novice Boričića, utvrđeno podudaranje teksta iznosi 9%. Ovaj stepen podudarnosti je posledica podudaranja složenih imena pojmova, tehničkih parametara koji se koriste u istraživanjima, nekih citata, opštih mesta i podataka,

slučajnih preklapanja nekih od fraza i brojeva, ili sličnosti u primeni statističkih testova, što je u skladu sa članom 9. Pravilnika o postupku provere originalnosti doktorskih disertacija koje se brane na Univerzitetu u Beogradu („Glasnik Univerziteta u Beogradu“, broj 204/18).

C) OPIS POSTIGNUTIH REZULTATA

Dobijeni rezultati su pokazali da je citokeratin 13 dijagnostički značajan marker za razlikovanje benignih lezija larinksa, lezija sa malignim potencijalom (displazija larinksa) i skvamocelularnog karcinoma larinksa. Nakon statističke obrade, za CK13 je odabrana granična vrednost ≥ 1 kao dijagnostički značajna (senzitivnost 100%, specifičnost 67,3% i površina ispod krive 0,926) za diferencijalnu dijagnozu između skvamocelularnog karcinoma larinksa i benignih lezija larinksa. Granična vrednost ≥ 1 (senzitivnost 100%, specifičnost 67,3% i površina ispod krive 0,921) je odabrana kao dijagnostički značajna za diferencijalnu dijagnozu između displazije larinksa i benignih lezija larinksa. Ukoliko se u leziji gubi ekspresija CK13, lezija ima maligni potencijal i u pitanju je ili displazija ili skvamocelularni karcinom larinksa. CK17 je vrlo senzitivna, ali slabo specifičan marker za dijagnozu skvamocelularnog karcinoma larinksa. Statističkom obradom podataka, odabrana je granična vrednost ≥ 1 (senzitivnost 95,2%, specifičnost 43,3%, površina ispod krive 0,692) kao dijagnostički značajna. Ukoliko postoji dijagnostička dilema između benigne lezije i skvamocelularnog karcinoma, a CK17 se eksprimira u leziji, lezija bi se mogla proglasiti skvamocelularnim karcinomom. Ukoliko u leziji koja je izgubila ekspresiju CK13 postoji i ekspresija CK17, lezija se može okarakterisati kao skvamocelularni karcinom.

Ukoliko postoji diferencijalno dijagnostička dilema između benigne lezije i displazije larinksa, a u leziji se eksprimira CK10, lezija se može okarakterisati kao displazija. Statističkom obradom podataka, odabrana je granična vrednost ≥ 1 (senzitivnost 71,4%, specifičnost 69,4%, površina ispod krive 0,733) kao dijagnostički značajna.

Ukoliko postoji diferencijalno dijagnostička dilema između displazije niskog gradusa i displazije visokog gradusa, a u leziji se eksprimira CK10 u 5% ili više ćelija, lezija se može okarakterisati kao displazija niskog gradusa. Statističkom obradom podataka, odabrana je granična vrednost ≥ 2 (senzitivnost 80,0%, specifičnost 61,1%, površina ispod krive 0,742) kao dijagnostički značajna.

Ukoliko postoji diferencijalno dijagnostička dilema između displazije larinksa i skvamocelularnog karcinoma larinksa, a u leziji se eksprimira CK17, lezija je verovatno skvamocelularni karcinom larinksa. Nakon statističke obrade odabrana je granična vrednost ≥ 1 kao dijagnostički značajna (senzitivnost 95,2%, specifičnost 46,4% i površina ispod krive 0,739) za diferencijalnu dijagnozu između displazija larinksa i skvamocelularnog karcinoma larinksa.

Gubitak ekspresije CK13 u leziji je visoko specifičan znak da lezija ima maligni potencijal. Pojava ekspresije CK17 je znak visokog malignog potencijala lezije. CK17 se može koristiti kao pomoćni dijagnostički marker uz CK13 za postavljanje dijagnoze skvamocelularnog karcinoma larinksa. Pojava ekspresije CK10 je znak da se radi o displaziji larinksa. Ekspresija CK10 je učestalija u displazijama niskog gradusa nego u displazijama visokog gradusa, pa se CK10 može koristiti kao pomoćni dijagnostički marker uz CK13 za razlikovanje benignih lezija od displazija larinksa i za razlikovanje displazija niskog gradusa od displazija visokog gradusa. CK8 se eksprimira samo u skvamocelularnim karcinomima larinksa, ali CK8 se nije pokazao kao dijagnostički značajan marker za skvamocelularni karcinom larinksa.

CK13 je dijagnostički koristan marker za određivanje statusa linija resekcije displazija i skvamocelularnog karcinoma. S obzirom da se ekspresija CK13 gubi ili slabi u svim lezijama sa malignim potencijalom, a da je ekspresija CK13 homogena i konstantna u normalnom epitelu larinksa, svaki gubitak ili slabljenje ekspresije CK13 u epitelu označava da se na tom

mestu nalazi lezija. Da nema lezije na linije reskcije se može tvrditi ukoliko je ekspresija CK13 homogena.

Ne postoji statistički značajna povezanost ekspresije CK8, CK10, CK13 i CK17 sa stadijumom skvamocelularnog karcinoma larinksa, ali postoji negativna povezanost ekspresije CK17 sa gradusom tumora. Ukoliko je ekspresija CK17 prisutna u većem procentu ćelija u tumoru, tumor je bolje diferentvan, odnosno, nižeg je gradusa. Ne postoji povezanost ekspresije CK8, CK10, CK13 i CK17 sa stadijumom skvamocelularnog karcinoma larinksa, ali postoji negativna povezanost ekspresije CK17 sa gradusom tumora. Ukoliko je ekspresija CK17 prisutna u većem procentu ćelija u tumoru, tumor je bolje diferentvan, odnosno, nižeg je gradusa. Postoji pozitivna korelacija ekspresije CK8 i negativna korelacija ekspresije CK17 sa dubinom invazije tumora, što sugerise da je ekspresija CK8 u skvamocelularnom karcinomu larinksa loš prognostički faktor.

Ne postoji statistički značajna povezanost ekspresije CK8, CK10, CK13 i CK17 sa prisustvom metastaza skvamocelularnog karcinoma larinksa u limfnim čvorovima vrata.

D) UPOREDNA ANALIZA REZULTATA SA REZULTATIMA IZ LITERATURE

Po našim saznanjima, ovo je prvo istraživanje u kome je ispitana dijagnostička korisnost CK13 u benignim i malignim lezijama larinksa. CK13 se pokazao kao značajan imunohistohemijski marker u diferencijalnoj dijagnozi benignih lezija i displazija larinksa, kao i u diferencijalnoj dijagnozi između benignih lezija i skvamocelularnog karcinoma larinksa. Do sada su samo He i sar. (2002) istraživali promene na genu CK13 u skvamocelularnom karcinomu larinksa i otkrili su da postoji delecija CK13 gena. Takođe su zaključili da je ekspresija CK13 gena značajno veća u normalnom tkivu larinksa nego u skvamocelularnom karcinomu larinksa, što je u skladu sa rezultatima dobijenim u našem istraživanju. Van Der Velden i sar. (1997) su ispitivali ekspresiju CK13 u skvamocelularnom karcinomu larinksa i uočili da postoji smanjenje ekspresije u odnosu na normalan epitel larinksa, što je uz skladu sa našim rezultatima. Ekspresija CK13 je ispitivana u displazijama i skvamocelularnim karcinomima oralne regije. Gubitak ekspresije CK13 se pokazao kao značajan za dijagnozu oralnih displazija i skvamocelularnog karcinoma oralne regije (Farrukh i sar, 2015; Wils i sar, 2020; Yamashina i sar, 2014) što je u skladu sa našim rezultatima. Zaključeno je da je CK13 najkonstantniji marker sa aberantnom ekspresijom u premalignim i malignim lezijama oralne mukoze (Sakamoto i sar. 2011), što je u skladu sa našim rezultatima. CK17 je vrlo senzitivna, ali slabo specifičan marker za dijagnozu skvamocelularnog karcinoma larinksa. Ekspresija CK17 u skvamocelularnom karcinomu larinksa je do sada ispitivana u jednom istraživanju na većem broju slučajeva, gde je zaključeno da je CK17 specifičan 100% i senzitivna 95% imunohistohemijski marker za skvamocelularni karcinom larinksa (Cohen-Kerem i sar, 2004). Ovi rezultati se ne slažu u potpunosti sa našim rezultatima. U našem istraživanju je ekspresija CK17 specifična za dijagnostiku skvamocelularnog karcinoma larinksa, ali je senzitivnost ove metode znatno niža (43,3%) u odnosu na senzitivnost iste metode u pomenutoj studiji (95%). Razlike u senzitivnosti između dve studije su posledica većeg broja benignih lezija koje su uključene u našu studiju, za koje se ispostavilo da ekspimiraju CK17. U našu studiju smo uključili 20 slučajeva polipa larinksa od kojih 19 (95%) ekspimiraju CK17 i 12 slučajeva papilarne keratoze larinksa od kojih 8 (68,3%) ekspimiraju CK17. U studiji Cohen-Kerem i saradnika je bilo uključeno samo 6 polipa larinksa. Moguće je da su razlike u rezultatima posledica i razlike u klonovima korišćenih antitela. Takođe, postoji razlika u interpretaciji podataka, jer je u našoj studiji korišćen semikvantitativni metod skorovanja ekspresije antitela, dok je u studiji

Cohen-Kerem i saradnika korišćen metod kompjuterizovane histomorfometrije, koji, iako precizniji, nije pogodan za upotrebu u dijagnostičke svrhe. Regenbogen i sar. (2018) su u svom istraživanju u koje je bilo uključeno 25 slučajeva sa dijagnostikovanim skvamocelularnim karcinomom larinksa došli do zaključka da je CK17 sa senzitivnošću od 84% i specifičnošću od 95% vrlo pouzdan imunohistohemijski marker za dijagnostikovanje skvamocelularnog karcinoma larinksa, što je u suprotnosti sa našim rezultatima. Razlike u rezultatima su posledica razlike u veličini uzorka (Regebogen i saradnici su u istraživanju imali samo 25 slučajeva skvamocelularnog karcinoma larinksa, dok je u našem uzorku bilo 83), korišćenju različitih klonova CK17, i posledica toga što su Regebogen i saradnici upoređivali ekspresiju CK17 u karcinomima sa ekspresijom CK17 u normalnom epitelu larinksa, za razliku od našeg istraživanja gde je ekspresija CK17 u karcinomima upoređivana sa ekspresijom CK17 u benignim lezijama larinksa u kojima se ispostavilo da postoji ekspresija CK17. Ekspresija CK17 je ispitivana u skvamocelularnim karcinomima oralne regije i zaključeno je da je CK17 dijagnostički značajan marker za dijagnozu skvamocelularnih karcinoma te regije (Matsuhira i sar, 2015; Sanguansin i sar, 2021; Wei i sar, 2009). U pomenutim studijama je ekspresija CK17 uočena u manjem procentu tumora nego što je to slučaj u našem istraživanju u kome je uočena ekspresija CK17 u svim slučajevima skvamocelularnog karcinoma larinksa. Ove razlike su posledica drugačijeg skorovanja ekspresije CK17. U našem istraživanju se pokazalo da CK17 nije značajan dijagnostički marker za razlikovanje benignih lezija larinksa od displazija larinksa. Ekspresija CK17 nije po našim saznanjima ispitivana u displazijama larinksa. U istraživanjima koja su se bavila ekspresijom CK17 u displazijama epitela oralne regije, zaključeno je da je CK17 dobar imunohistohemijski marker za dijagnostikovanje oralne displazije i da povećanje ekspresije CK17 korelira sa višim gradusom displazije, što ga čini dobrim dijagnostičkim markerom za gradiranje displazija (Sanguansin i sar, 2021; Maryam Nazir Kiani i sar, 2020). Iste karakteristike ekspresije CK17 su uočene i u displazijama cerviksa uterusa, (Carrilho i sar, 2004; Maddox i sar, 2009; Martens i sar, 1999), displastičnih promena u koži (Fernandez-Flores i sar, 2016) i diferentovanih vulvarnih intraepitelnih neoplazija (Maryam Nazir Kiani i sar, 2020; Podoll i sar, 2017), gde se može koristiti za dijagnostikovanje i gradiranje displazije. Rezultati dobijeni u prethodno navedenim studijama se razlikuju od naših rezultata. Razlike u rezultatima mogu biti posledica manjeg broja slučajeva displazija u našoj studiji, drugačije patogeneze nastanka displazija larinksa u odnosu na displazije cerviksa uterusa, vulve i kože, ili drugačijeg embrionalnog porekla larinksa i oralne sluznice. U diferencijalno dijagnostičkoj dilemi između displazije larinksa i benignih lezija larinksa, CK10 se pokazao kao koristan marker. Ekspresija CK10 nije uočena u normalnom epitelu larinksa. CK10 se pokazao kao koristan marker u diferencijalnoj dijagnostici displazija niskog gradusa i displazija visokog gradusa. CK10 se nije pokazao kao dijagnostički značajan imunohistohemijski marker za dijagnostiku skvamocelularnog karcinoma larinksa. Cohen-Kerem i saradnici su u svom istraživanju zaključili da je CK10 vrlo senzitivna (senzitivnost 90,9%) i umereno specifična (specifičnost 69,2%) imunohistohemijski marker za dijagnostiku skvamocelularnog karcinoma larinksa (Cohen-Kerem i sar, 2002). Razlike u rezultatima su posledica različite metodologije jer su Cohen-Kerem i saradnici PCR metodom i Southern Blot metodom merili količinu CK10 iRNK u uzorku. Takođe, razlike u uzorcima su posledica različitosti uzorka. U istraživanju Carrilho i saradnika, uočena je ekspresija CK10 i u normalnoj sluznici ektocerviksa, a gubitak ekspresije CK10 je smatran dijagnostički značajnim za dijagnozu displazije i skvamocelularnog karcinoma cerviksa uterusa. Gubitak ekspresije CK10 bio je izraženiji u displazijama višeg gradusa, dok je najizraženiji gubitak bio u skvamocelularnom karcinomu (Carrilho i sar, 2004). Ovakvi rezultati su dijametralno suprotni od naših rezultata. Moguća objašnjenja za razlike su drugačija patogeneza nastanka lezija cerviksa (infekcija HPV-om je glavni etiološki faktor u nastanku displazija i karcinoma

cerviksa uterusa, dok u nastanku displazija i skvamocelularnog karcinoma larinksa HPV ne igra značajnu ulogu) i drugačije osobine epitela dve regije, s obzirom na različito embrionalno poreklo cerviksa i larinksa. Gubitak ekspresije CK10 u aktiničnom heilitisu je dijagnostički znak displazije (Garcia i sar, 2016), što je opet u potpunoj suprotnosti sa našim rezultatima da je pojava ekspresije CK10 početni znak maligne transformacije. Objašnjenje za ove razlike se opet može naći u drugačijoj patogenezi lezije (UV zračenje kao etiološki faktor u nastanku displazija u aktiničnom heilitisu) i drugačijim osobinama epitela usne i larinksa.

CK8 se nije pokazao kao značajan imunohistohemijski marker u dijagnostici benignih lezija, displazija i skvamocelularnog karcinoma larinksa, a pa našim saznanjima CK8 do sada nije ispitivan kao dijagnostički marker u karcinomima ove regije.

Zaključili smo da je CK13 odličan marker za određivanje linija resekcije. Ekspresija CK13 se gubi u svim lezijama sa malignim potencijalom koje su uključene u naše istraživanje (displazije niskog i visokog gradusa i skvamocelularni karcinom larinksa). Ekspresija CK13 je jaka i homogena u normalnom epitelu larinksa, pa je gubitak ekspresije CK13 lako uočljiv. Smatramo da se tumor nalazi na linijama resekcije kad bojenje na CK13 na linijama resekcije nije uniformno, odnosno kada postoji gubitak ekspresije CK13 u epitelu. Po našim saznanjima CK13 do sada nije ispitivan u karcinomima kao dijagnostički marker za određivanje linija resekcije. Cohen Kerem i saradnici su CK17 predložili kao pouzdan marker koji bi pomogao u interpretaciji da li se tumor nalazi ili ne nalazi na linijama resekcije, što se razlikuje od naših rezultata (Cohen-Kerem i sar, 2004). Cohen-Kerem i saradnici su koristili kompjutersku histomorfometriju u interpretaciji svojih rezultata što nije lako primenljivo u praktičnom radu, a po našem iskustvu, postoje vrlo velike varijabilnosti u ekspresiji CK17 u lezijama sa malignim potencijalom, što ga čini nepouzdanim markerom za određivanje linija resekcije. U našem istraživanju smo došli do zaključka da postoji negativna korelacija između procenta ćelija u leziji koje su pozitivne na CK17 i gradusa (diferentovanosti) skvamocelularnog karcinoma. Cohen-Kerem i saradnici su u svom istraživanju došli do zaključka da ekspresija CK17 nije povezana sa gradusom tumora (Cohen-Kerem i sar, 2004). Razlike u rezultatima su posledica drugačije interpretacije pozitivnosti CK17 i veličine uzorka, jer su Cohen-Kerem i saradnici imali manji uzorak od 57 skvamocelularnih karcinoma larinksa, dok je u našem istraživanju broj slučajeva skvamocelularnog karcinoma larinksa bio 83. E-S Xu i saradnici su u svom istraživanju na karcinomima regije glave i vrata, u koje su bila uključena 3 skvamocelularna karcinoma larinksa, došli do zaključka da se ekspresija CK17 smanjuje u slabije diferentovanim karcinomima ove regije (Xu ES i sar, 2018), što je u skladu sa našim zaključcima. Regenbogen i saradnici su u svom istraživanju u koje je bilo uključeno 25 slučajeva sa dijagnostikovanim skvamocelularnim karcinomom larinksa, došli do zaključka da se ekspresija CK17 u karcinomima smanjuje sa porastom gradusa tumora (Regenbogen i sar. 2018), što je u skladu sa našim rezultatima.

Na osnovu rezultata dobijenih statističkom analizom smo došli do zaključka da ne postoji povezanost između ekspresije citokeratina CK8, CK10, CK13 i CK17 sa prisustvom metastaza skvamocelularnog karcinoma larinksa u limfnim čvorovima. E-S Xu su u svom istraživanju na karcinomima regije glave i vrata, u koje su bila uključena 3 slučaja skvamocelularnog karcinoma larinksa, zaključili da je smanjenje ekspresije CK17 u tumorima prediktor pojave metastaza u limfnim čvorovima (Xu ES i sar, 2018). Ovi rezultati se razlikuju od naših rezultata. Razlike mogu da budu posledica drugačijeg uzorkovanja materijala. Za istraživanje E-S Xu su korišćeni tkivni mikronizovi, gde su za imunohistohemijsku analizu birani mali reprezentativni fokusi prečnika par milimetara, dok su u našem istraživanju za imunohistohemijsku analizu korišćeni celi preseki tumorskog tkiva, što je uzevši u obzir nehomogenu ekspresiju CK17 u tumorima, moglo da dovede do razlike u rezultatima.

Na osnovu rezultata dobijenih statističkom obradom, zaključeno je da postoji značajna povezanost ekspresije CK8 i CK17 u skvamocelularnom karcinomu larinksa sa dubinom invazije tumora. Safadi i saradnici su u svom istraživanju na skvamocelularnim karcinomima oralne i orofaringealne regije zaključili da povećana ekspresija CK8 u tumoru korelira sa većom dubinom invazije, a da ne postoji povezanost između ekspresije CK10 i CK13 u tumoru sa dubinom invazije (Safadi i sar, 2019), što je u skladu sa našim rezultatima. Pokazalo se da je povišena ekspresija CK17 u skvamocelularnom karcinomu analne regije povezana sa većom dubinom invazije (Nazarian i sar, 2014), što nije u korelaciji sa našim rezultatima. Moguća objašnjenja za razlike u rezultatima su drugačija patogeneza i drugačije biološko ponašanje skvamocelularnog karcinoma analne regije od skvamocelularnog karcinoma larinksa. E-S Xu i saradnici su u svom istraživanju na skvamocelularnim karcinomima glave i vrata zaključili da je smanjena ekspresija CK17 u tumoru povezana sa većom dubinom invazije (Xu ES i sar, 2018), što je u skladu sa našim rezultatima.

E) OBJAVLJENI ILI SAOPŠTENI REZULTATI KOJI ČINE DEO TEZE

Rad u časopisu indeksiranom u CC/SCI:

Boricic N, Boricic I, Soldatovic I, Milovanovic J, Trivic A, Terzic T. Utility of CK8, CK10, CK13, and CK17 in Differential Diagnostics of Benign Lesions, Laryngeal Dysplasia, and Laryngeal Squamous Cell Carcinoma. Diagnostics (Basel). 2022 Dec 16;12(12):3203. doi: 10.3390/diagnostics12123203 (M21, IF 3,706).

F) ZAKLJUČAK (OBRAZLOŽENJE NAUČNOG DOPRINOSA DISERTACIJE)

Doktorska disertacija „DIJAGNOSTIČKI ZNAČAJ EKSPRESIJE CITOKERATINA VISOKE MOLEKULARNE TEŽINE I NISKE MOLEKULARNE TEŽINE U SKVAMOCELULARNOM KARCINOMU LARINKSA I BENIGNIM LEZIJAMA LARINKSA“ dr Novice Boričića predstavlja originalni naučni doprinos istraživanjima koja se odnose na dijagnostički značajne markere u diferencijalnoj dijagnostici lezija larinksa. Ovaj rad predstavlja prvu naučnu publikaciju o dijagnostičkom značaju citokeratina CK8, CK13 i CK10 u lezijama larinksa. U istraživanju je predložen vrlo senzitivni imunohistohemijski marker (CK13) za razlikovanje lezija sa malignim potencijalom i malignih lezija od benignih lezija i metaplastičnog epitela larinksa, što predstavlja veliki diferencijalno dijagnostički problem, kada se dijagnostika obavlja na malim uzorcima tkiva. U istraživanju je predložen CK13 kao pouzdan imunohistohemijski marker za određivanje statusa linija resekcije. U istraživanju je takođe predložen CK10 kao imunohistohemijski marker za razlikovanje displazija larinksa visokog gradusa od displazija larinksa niskog gradusa. Do sada, zbog oslanjanja na subjektivnu procenu posmatrača pri dijagnostici, nije napravljen pouzdan i precizan sistem klasifikacije displazija larinksa, pa smatramo da bi ovaj marker mogao doprineti preciznom i objektivnom klasifikovanju displazija larinksa.

Ova doktorska disertacija je urađena prema svim principima naučnog istraživanja. Ciljevi su bili precizno definisani, naučni pristup je bio originalan i pažljivo izabran, a

metodologija rada je bila savremena. Rezultati su pregledno i sistematično prikazani i diskutovani, a iz njih su izvedeni odgovarajući zaključci.

Na osnovu navedenog, komisija smatra da doktorska disertacija predstavlja originalni naučni doprinos i predlaže Naučnom veću da prihvati priloženu disertaciju dr Novice Boričića pod naslovom „**DIJAGNOSTIČKI ZNAČAJ EKSPRESIJE CITOKERATINA VISOKE MOLEKULARNE TEŽINE I NISKE MOLEKULARNE TEŽINE U SKVAMOCELULARNOM KARCINOMU LARINKSA I BENIGNIM LEZIJAMA LARINKSA**“ i odobri njenu javnu odbranu.

U Beogradu, 31.01.2023. godine

Mentor

Članovi Komisije:

Prof. dr Tatjana Terzić

Prof. dr Jovica Milovanović

Prof. dr Biserka Vukomanović Đurđević

Prof. dr Duško Dunderović