

**НАУЧНОМ ВЕЋУ МЕДИЦИНСКОГ ФАКУЛТЕТА УНИВЕРЗИТЕТА У
БЕОГРАДУ**

На седници Научног већа Медицинског факултета у Београду, одржаној дана 21. 05. 2018. године, број 5940/16-ДР, именована је Комисија за оцену завршене докторске дисертације под насловом:

**„Значај експресије протеина одржавања минихромозома 2, 5 и 7 у базоцелуларном
карциному коже периокуларне регије”**

кандидата **др Дејана М. Рашића**, запосленог у Клиници за очне болести Клиничког центра Србије у Београду. Ментор је **проф. др Димитрије Брашанац**.

Комисија за оцену завршене докторске дисертације именована је у саставу:

1. **Проф. др Аница Бобић Радовановић**, ванредни професор на Катедри офталмологије Медицинског Факултета Универзитета у Београду

2. **Доц. др Мартина Босић**, доцент на Катедри патологије Медицинског факултета Универзитета у Београду

3. **Проф. др Славица Кнежевић Ушај**, редовни професор на Катедри патологије Медицинског факултета Универзитета у Новом Саду

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 Дејана М. Рашића написана је на укупно 155 страна и подељена је на следећа поглавља: увод, циљеви рада, материјал и методе рада, резултати рада, дискусија, закључци рада и литература. У дисертацији се налази укупно 34 табеле и 20 фотографија. Докторска дисертација још садржи, на почетку, податке о ментору и члановима комисије, стране са захвалницом, сажетак на српском и енглеском језику, садржај, а на крају списак скраћеница коришћених у тексту, биографију кандидата и прилоге.

У **Уводу** је дефинисано шта је то базоцелуларни карцином коже, како са клиничког тако и са хистопатолошког становишта, уз детаљне клиничко-патохистолошке поделе и најновије класификације. На адекватан начин је у потпуности описана патогенеза, учесталост појављивања као и узраст и пол пацијената код којих се овај тумор јавља, локализација и клинички изглед ове малигне неоплазме са офталмолошког аспекта, патохистолошка слика и класификација у односу на локализацију која је тема наведене дисертације, као и терапија и прогноза. Такође, описана су у сажетом али веома информативном облику сва досадашња сазнања везана за ћелијски циклус и маркере пролиферације и протеине одржавања минихромозома (МЦМ) и њихове улоге у ћелијском циклусу и канцерогенези, као и клиничко-патоолошке студије њихове експресије као антигена пролиферације, уз осврт на улогу ових протеина, према досадашњим сазнањима, у лечењу канцера.

Циљеви рада су прецизно дефинисани. Састоје се од испитивања и анализе испољавања МЦМ протеина 2, 5 и 7 у базоцелуларном карциному коже периокуларне регије и поређења експресије ових протеина и прогностичких параметара базоцелуларног карцинома - хистолошки подтип, димензије (највећи пречник и површина) тумора и, дубина туморске инвазије. Уз то, као циљ дисертације постављена је и процена различитих

начина евалуације имунохистохемијског бојења и експресије МЦМ протеина у односу на хистолошки подтип испитиваног тумора и остале наведене прогностичке параметре.

У поглављу **Материјал и методе рада** наведено је да је истраживањем обухваћен архивски материјал (парафински калуши) Института за патологију Медицинског факултета Универзитета у Београду као и Офталмопатолошке лабораторије Клинике за очне болести Клиничког центра Србије, у узорку од 294 адекватних за евалуацију и тумачење одабраних случајева базоцелуларног карцинома коже периокуларне регије, те да је у питању студија пресека у петнаестогодишњем периоду од 1998-2013. године, из раније специјално дизајниране и попуњене базе података. Анализа материјала је рађена у виду ткивног микрониза, специјалне врсте формирања хистопатолошких узорака, имунохистохемијским бојењем, које је касније евалуирано (анализом 4806 начињених дигиталних фотографија; семиквантитативно и аутоматски) и статистички обрађено методама дескриптивне и аналитичке статистике.

У поглављу **Резултати рада**, детаљно, прегледно и разумљиво су описани и представљени сви добијени резултати.

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

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

Коришћена **Литература** садржи списак од 224 референце.

Б) Кратак опис постигнутих резултата

Дистрибуција имунопозитивности за сва три испитивана МЦМ протеина у целокупном узорку била је доминантно дифузна, уз постојање високо статистички значајне разлике у дистрибуцији МЦМ 7 протеина. Тумори високог ризика у поређењу са туморима ниског ризика показују статистички значајно различиту дистрибуцију имунопозитивности МЦМ 2 и високо статистички значајну различиту дистрибуцију имунопозитивности МЦМ 7 протеина, док тумори ниског ризика у поређењу са туморима мешовитог ризика показују статистички значајно различиту дистрибуцију имунопозитивности МЦМ 5 протеина. Дистрибуција имунопозитивности у целокупном

узорку у односу на дубину туморске инвазије показује статистички значајну разлику у дистрибуцији МЦМ 2 протеина, док је дистрибуција имунопозитивности у односу на дубину туморске инвазије код тумора високог ризика показала статистички значајну разлику за МЦМ 7 протеин. Дистрибуција имунопозитивности у целокупном узорку у односу на површину тумора показује високо статистички значајну разлику у дистрибуцији МЦМ 7 протеина. Анализом обима експресије имунопозитивности добијени резултати показују веома јасну дистинкцију, са статистички значајном разликом, између испитиваних протеина, а у односу на ризичне групе базоцелуларног карцинома и у односу на дубину инвазије базоцелуларног карцинома. Наиме, највећи број тумора све три ризичне групе, све три дубине инвазије, као и све три групе пречника тумора, показује експресију МЦМ 2 протеина у обиму од 10-50%, МЦМ 5 протеина у обиму >50%, а МЦМ 7 протеина у обиму <10%. Највишу експресију МЦМ 2 и 7 протеина показују тумори високог ризика, а најмању тумори ниског ризика, док насупротив томе највишу експресију МЦМ 5 протеина показују тумори ниског ризика, а најмању тумори високог ризика. Надаље, највећи проценат тумора који захватају ретикуларни дерм је позитиван на МЦМ 2 протеин, оних који захватају целу дебљину капка/поткожно/масно ткиво на МЦМ 5 протеин, а оних који захватају мишићни слој на МЦМ 7 протеин. Имуноекспресија МЦМ протеина 2, 5 и 7 у односу на највећи измерени пречник, иако расте са порастом истог, није показала статистички значајну разлику. У односу на површину тумора, обим експресије МЦМ протеина се нешто разликује у односу на претходне резултате, али без статистички значајне разлике – тумори највеће површине показује експресију МЦМ 2 протеина у обиму <10%, МЦМ 5 протеина у обиму 10-50%, а МЦМ 7 протеина у обиму >50%, што значи да како тумор расте, опада експресија МЦМ 2 протеина, а повећава се за МЦМ 5 и 7 протеине. Највиши обим експресије МЦМ 2 протеина имају тумори високог ризика, они који захватају ретикуларни дерм, а најмањи тумори ниског ризика и највеће површине. Највиши обим експресије експресију МЦМ 5 протеина имају тумори ниског ризика, они који захватају целу дебљину капка/поткожно/масно ткиво, и највећег пречника, а најмањи тумори високог ризика. Највиши обим експресије МЦМ 7 протеина имају тумори високог ризика, они који захватају мишићни слој, и они највеће површине, а најмањи тумори ниског ризика и највећег пречника. Анализом индекса обележавања показало се да највећи проценат имуноекспресије у ткиву базоцелуларног карцинома, са статистички значајном разликом, показује МЦМ 5 протеин, а најмањи МЦМ 7, као и да су тумори ниског степена ризика за појаву рецидива имали највећи проценат имуноекспресије сва три МЦМ протеина, док је у односу на дубину инвазије највећи проценат тумора који захватају целу

дебљину капка/поткожно/масно ткиво позитиван на МЦМ 5 и МЦМ 2 протеин, а оних који захватају ретикуларни дерм на МЦМ 7 протеин. Односно, проценат имуноекспресије сва три МЦМ протеина опада како расте агресивност тумора, а расте како се повећава дубина туморске инвазије за МЦМ 2 и 5 протеин, а опада за МЦМ 7. То значи да тумори са већим ризиком од појаве рецидива имају мању експресију сва три МЦМ протеина – како се повећава хистопатолошка агресивност смањује се индекс пролиферације, насупротив чињеници да са порастом дубине инвазије расте проценат имуноекспресије МЦМ 2 и 5 протеина, али не и МЦМ 7 – како тумор све дубље продире расте индекс пролиферације за МЦМ 2 и 5 протеин, али не и за МЦМ 7. Поређење начина евалуације имунохистохемијских бојења, семиквантитативног насупротив аутоматском бројању, показало је умерено до значајно слагање што указује како на поузданост оба начина евалуације, тако и на високу поузданост аутоматског бројања, као и на конзистентност добијених резултата од стране испитивача.

В) Упоредна анализа докторске дисертације са резултатима из литературе

С обзиром на то да нема других радова о експресији МЦМ протеина у базоцелуларном карциному коже периокуларне регије са којима би било могуће поредити резултате добијене у овој дисертацији, у даљем тексту биће изнети подаци везано за друге туморе, како коже тако и других органа другачије хистолошке грађе, из радова који су се бавили овом проблематиком.

У кератиноцитним и меланоцитним лезијама коже, дифузна и периферна дистрибуција имунопозитивности МЦМ протеина биле су подједнако заступљене. Дифузна дистрибуција имунопозитивности МЦМ протеина претежно је била изражена код умерено/средње и слабо диферентованих сквамозелуларних карцинома мукозе различитих локализација, а периферна код почетно/површно инвазивних и добро диферентованих. Код других наведених тумора није вршено поређење обима експресије и степена диферентованости тумора. За разлику, дифузна дистрибуција имунопозитивности МЦМ протеина била је присутна у готово свим хистопатолошким подтипovima базоцелуларног карцинома коже периокуларне регије, уз једино одступање код МЦМ 7 протеина. Ово би могло да значи да базоцелуларни карцином нема пролиферативни „фронт”, већ да све ћелије имају подједнаку способност пролиферације.

Дифузна дистрибуција имунопозитивности је била повезана с већом дубином туморске инвазије само за МЦМ 2 протеине код базоцелуларног карцинома коже периокуларне регије, док је у другим туморима (сквамозелуларни карцином коже и суперфицијално ширећи меланом коже), где је вршена иста анализа, и дифузна дистрибуција имунопозитивности корелирала са већом дебљином тумора и за МЦМ 5 и МЦМ 7.

Поређење дистрибуције имунопозитивности МЦМ 2, 5 и 7 протеина у односу на пречник тумора једино је испитивано у сквамозелуларном карциному коже, где је уочено, код тумора пречника до и више од 20 *mm*, да су периферна и дифузна дистрибуција биле готово подједнако заступљене, без статистички значајне разлике, што је навело истраживаче на закључак да дистрибуција имунопозитивности МЦМ протеина не корелира са овом граничном димензијом тумора (која се користи при дефинисању стадијума). Дифузна дистрибуција имунопозитивности доминира (59,0-81,9%) и у свим категоријама пречника базоцелуларног карцинома, код сва три МЦМ протеина, али без статистички значајне разлике између група.

Код других тумора, у односу на базоцелуларни карцином коже, не уочава се тако јасна дистинкција у испољавању експресије имунопозитивности између појединих МЦМ протеина. Исто тако, у зависности од типа тумора, разликује се и експресија сваког појединог МЦМ протеина у односу на степен агресивности тумора, што наводи на закључак да улогу ових протеина у канцерогенези треба посматрати за сваки канцер понаособ, а не уопштено, али се и сасвим јасно може потврдити закључак литературе да су МЦМ протеини далеко више експримовани у малигном него у нормалном или ткиву бенигну тумора.

У односу на хистопатолошки подтип односно степен диферентованости малигне неоплазме као мерилу агресивности канцера, налази ове дисертације се мање-више поклапају са налазима других аутора у другим туморима, који говоре да се експресија МЦМ протеина повећава како расте агресивност тумора.

У литератури нису пронађени подаци који су испитивали обим експресије имунопозитивности МЦМ протеина 2, 5 и 7 у односу на дубину туморске инвазије и у односу на површину тумора, како за базоцелуларни карцином коже тако и за било који други тумор.

У базоцелуларном карциному коже, као и у већини других тумора у којима је испитивана корелација семиквантитативно одређене експресије МЦМ протеина у односу на пречник/величину тумора, није утврђена корелација односно статистички значајна разлика у имуноекспресији истих у односу на величину тумора, што наводи на закључак да пролиферативна активност одређена преко експресије МЦМ протеина не показује јасну повезаност са димензијама ових тумора. Ипак, требало би нагласити и следеће – радови који су се бавили испитивањем експресије МЦМ протеина у малигнитетима одређеног органа (посебно бубрег и дојка), без посебног испитивања за сваки појединачан тумор из групе тумора који су анализирани, могу да покажу и сасвим опречне резултате, што указује на неопходност испитивања експресије МЦМ протеина како за сваки тумор понаособ, уз следствено међутуморско поређење, тако и за сваки МЦМ протеин посебно, а све са циљем добијања валидних резултата.

У базоцелуларном карциному коже периокуларне регије, тумори најнижег ризика за појаву рецидива имају највећи проценат позитивних ћелија сва три МЦМ протеина. У другим туморима, експресија МЦМ протеина се повећавала са порастом агресивности тумора (лошији хистолошки градус, израженији метастатски потенцијал), што је у супротности са налазом ове дисертације, али говори о самој природи базоцелуларног карцинома коже, као спорорастућем, локално инвазивном тумору, изражено ниског метастатског потенцијала. Одступање од поменутог забележено је у меланоцитиним лезијама коже, где није било значајне разлике у односу на врсту лезије, у карциному ендометријума, где није било разлике у односу на степен агресивности тумора, као и у дезмоидним туморима, где је експресија МЦМ протеина забележена у занемарљивом броју случајева.

У базоцелуларном карциному коже периокуларне регије, тумори са најдубљим продором имају највећи проценат позитивних ћелија за МЦМ 2 и 5 протеин, уз одступање за МЦМ 7 протеин који је највише експримован у туморима са најплићим продором. У суперфицијелно ширећем меланому коже, експресија МЦМ 7 протеина се повећавала са порастом дубине инвазије/дебљине тумора, што је у супротности са налазом ове дисертације и највероватније је последица различитих природа ове две малигне неоплазме.

У литератури нису пронађени подаци који су испитивали проценат позитивних ћелија МЦМ протеина 2, 5 и 7 у односу на површину тумора, како за базоцелуларни карцином коже тако и за било који други тумор.

Налази добијени анализом експресије МЦМ протеина у односу на величину/пречник базоцелуларног карцинома коже периокуларне регије, мање-више поклапају се са налазима добијеним испитивањем других тумора по истим критеријумима, у смислу већег процента позитивних ћелија у већим туморима.

У литературу не постоји нити једна студија која је анализира/поредила различите начине евалуације имунохистохемијских бојења (семиквантитивно и аутоматско бројање), било које хумане неоплазме.

Г) Објављени радови који чине део уже научне области докторске дисертације

1. ***Rašić DM***, Knežević M, Terzić T, Vlajković G. Bilateral ocular panadnexal mass as initial presentation of systemic blastoid variant of mantle cell lymphoma. *Surv Ophthalmol.* 2017;62(1):83-8. doi: 10.1016/j.survophthal.2016.05.005. Review.

Д) Закључак (образложење научног доприноса)

Докторска дисертација „**Значај експресије протеина одржавања минихромозома 2, 5 и 7 у базоцелуларном карциному коже периокуларне регије**” др Дејана М. Рашића, као прва оваква студија у домаћој, али и светској литератури, у којој је веома детаљно и систематично процењивана експресија и дистрибуција протеина одржавања минихромозома 2, 5 и 7 у базоцелуларном карциному коже периокуларне регије, представља оригиналан научни допринос у још бољем сагледавању и разумевању како појединачних улога ових протеина као маркера (малигне) пролиферације тако и процеса канцерогенезе уопште.

Анализом добијених резултата уочено је да су тумори имали доминантно дифузну дистрибуцију позитивних ћелија и то у односу на готово све испитиване параметре. Имуноекспресија МЦМ протеина у односу на димензије тумора (површину и највећи измерени пречник) није показала статистички значајну разлику. Анализом имуноекспресије МЦМ протеина у односу на дубину туморске инвазије као и поређењем исте према различитим хистопатолошким подтипovima тумора уочено је да је дифузна дистрибуција имунопозитивности била преодминантан облик имуноекспресије, уз чињеницу да је сваки од анализираних МЦМ протеина имао веома јасно ограничен

семиквантитативан опсег своје имунопозитивности у готово 2/3 испитиваних случајева. Аутоматско бројање ћелија показало се значајно поузданим за процену обима имунопозитивности и да се може користити уместо напорног мануелног бројања, или мање прецизне семиквантитаивне процене обима имуноекспресије. И поред сличности, уочене су и разлике у имуноекспресији МЦМ 2, 5 и 7 протеина у односу на одређене карактеристике базоцелуларног карцинома, што указује на потребу додатних упоредних испитивања како у овој врсти тумора, на истој или другачијој локализацији, тако и у различитим туморима, што би допринело и процени њихове индивидуалне употребљивости у процени биолошког потенцијала тумора.

Ова докторска дисертација је урађена према свим принципима научног истраживања. Циљеви су прецизно дефинисани, научни приступ је оригиналан и пажљиво изабран, а методологија рада је савремена. Резултати су прегледно и систематично приказани и дискутовани, а из њих су изведени и одговарајући закључци.

На основу свега наведеног, а имајући у виду и досадашњи научни рад кандидата, комисија предлаже Научном већу Медицинског факултета Универзитета у Београду да прихвати докторску дисертацију др Дејана М. Рашића и одобри њену јавну одбрану ради стицања академске титуле доктора медицинских наука.

У Београду, 19.VI 2018.

Чланови Комисије:

Проф. др Аница Бобић Радовановић

Доц. др Мартина Босић

Проф. др Славица Кнежевић Ушпај

Ментор:

Проф. др Димитрије Брашанац
