



УНИВЕРЗИТЕТ У КРАГУЈЕВЦУ
МЕДИЦИНСКИ ФАКУЛТЕТ

Дејан Т. Рашић

**ИСПИТИВАЊЕ ПРОГНОСТИЧКЕ ВРЕДНОСТИ
ЕКСПРЕСИЈЕ МЕТАЛОПРОТЕИНАЗА
МАТРИКСА 2 И 9 КОД БОЛЕСНИКА СА
ПЛАНОЦЕЛУЛАРНИМ КАРЦИНОМОМ
ГРКЉАНА**

докторска дисертација

Крагујевац, 2021



UNIVERSITY OF KRAGUJEVAC
FACULTY OF MEDICAL SCIENCES

Dejan T. Rašić

**INVESTIGATION OF THE PROGNOSTIC VALUE
OF MATRIX 2 AND 9 METALLOPROTEINASE
EXPRESSION IN PATIENTS WITH LARYNGEAL
SQUAMOUS CELL CARCINOMA**

Doctoral Dissertation

Kragujevac, 2021

Аутор
Име и презиме: Дејан Рашић
Датум и место рођења: 16.7.1970. Београд
Садашње запослење: Оториноларинголог у Војномедицинској академији у Београду
Докторска дисертација
Наслов: ИСПИТИВАЊЕ ПРОГНОСТИЧКЕ ВРЕДНОСТИ ЕКСПРЕСИЈЕ МЕТАЛОПРОТЕИНАЗА МАТРИКСА 2 И 9 КОД БОЛЕСНИКА СА ПЛАНОЦЕЛУЛАРНИМ КАРЦИНОМОМ ГРКЉАНА
Број страница: 88
Број слика: 11
Број библиографских података: 155
Установа и место где је рад израђен: Клиника за оториноларингологију Војномедицинске академије у Београду
Научна област (УДК): Медицина. Онкологија
Ментор: Проф. др Александар Перић, ванредни професор Медицинског факултета Војномедицинске академије, Универзитета Одбране у Београду
Оцена и одбрана
Датум пријаве теме: 11.05.2020.
Број одлуке и датум прихватања докторске дисертације: IV-03-708/15 од 08.10.2020.
Комисија за оцену научне заснованости теме и испуњеност услова кандидата: 1. Доц. др Јасмина Стојановић, доцент Факултета медицинских наука Универзитета у Крагујевцу 2. Доц. др Јелена Сотировић, доцент Медицинског факултета Војномедицинске академије Универзитета Одбране у Београду 3. Доц. др Бисерка Вукомановић-Ђурђевић, доцент Медицинског факултета Војномедицинске академије Универзитета Одбране у Београду
Комисија за оцену и одбране докторске дисертације: 1. Доц. др Јасмина Стојановић, доцент Факултета медицинских наука Универзитета у Крагујевцу 2. Доц. др Јелена Сотировић, доцент Медицинског факултета Војномедицинске академије Универзитета Одбране у Београду 3. Доц. др Бисерка Вукомановић-Ђурђевић, доцент Медицинског факултета Војномедицинске академије Универзитета Одбране у Београду
Датум одбране дисертације:

Author
Name and surname: Dejan Rašić
Date and place of birth: 16.7.1970. Belgrade
Current employment: Otorhinolaryngologist for Military Medical Academy, Belgrade
Doctoral Dissertation
Title: INVESTIGATION OF THE PROGNOSTIC VALUE OF MATRIX 2 AND 9 METALLOPROTEINASE EXPRESSION IN PATIENTS WITH LARYNGEAL SQUAMOUS CELL CARCINOMA
No. of pages: 88
No. of images: 11
No. of bibliographic data: 155
Institution and place of work: Department of otolaryngology of Military Medical Academy, Belgrade
Scientific area (UDK): Medicine. Oncology.
Mentor: Assist Prof. Aleksandar Perić, MD, PhD, Military Medical Academy Faculty of Medicine, University of Defence, Belgrade, Serbia
Grade and Dissertation Defense
Topic Application Date: 11.05.2020.
Decision number and date of acceptance of the doctoral: IV-03-708/15 of 08.10.2020.
Commission for evaluation of the scientific merit of the topic and the eligibility of the candidate:
<ol style="list-style-type: none"> 1. Jasmina Stojanović, MD, PhD, Faculty of Medical Sciences, University of Kragujevac 2. Jelena Sotirović, MD, PhD, Military Medical Academy Faculty of Medicine, University of Defence, Belgrade, Serbia 3. Biserka Vukomanović- Djurdjević, MD, PhD, Military Medical Academy Faculty of Medicine, University of Defence, Belgrade, Serbia
Commission for evaluation and defense of doctoral:
<ol style="list-style-type: none"> 1. Jasmina Stojanović, MD, PhD, Faculty of Medical Sciences, University of Kragujevac 2. Jelena Sotirović, MD, PhD, Military Medical Academy Faculty of Medicine, University of Defence, Belgrade, Serbia 3. Biserka Vukomanović- Djurdjević, MD, PhD, Military Medical Academy Faculty of Medicine, University of Defence, Belgrade, Serbia
Date of Dissertation Defense:

Изражавам огромну захвалност свом ментору проф. др Александру Перићу, на несебичној помоћи и подршци, током целокупног процеса израде докторске дисертације

Захвалан својој породици, на љубави и безрезервној подршци

Апстракт

Малигни тумори ларинкса чине 1-2% свих малигних тумора у хуманој популацији. Планоцелуларни карцином ларинкса је чешћи у мушкој, него у женској популацији, јављајући се обично између пете и седме деценије живота. Најзначајнији етиолошки фактори за карцином ларинкса су пушење дувана, конзумација алкохолних пића, гастроэзофагеални рефлукс, инфекције ХПВ вирусом, аерозагађење, исхрана сиромашна воћем и поврћем. Прогноза ларингеалног карцинома зависи од регионалне захваћености малигном болешћу, односно стадијума болести, који се одређује на основу TNM (Tumour Node Metastasis) класификације. Време преживљавања се значајно смањује развојем и ширењем болести (локорегионалне или удаљене метастазе). Последњих година, истраживања на молекуларном нивоу открила су многе механизме онкогенезе. Експресија специфичних тумор маркера је повезана са развојем болести и биолошким понашањем карцинома ларинкса. Идентификација прогностичке вредности неких тумор маркера била би од велике помоћи у одабиру терапијског модалитета, који је од круцијалног значаја за прогнозу болести. Матрикс металопроотеиназе (ММП) су фамилија од 23 ендопептидазе, структурно врло сличне протеолитичким ензимима који имају способност разградње компоненти екстрацелуларног матрикса. Стога, ММП играју важну улогу у прогресији и метастазирању канцера. Повишене нивое ММП се могу детектовати у туморском ткиву и серуму пацијената са узнапредовалим карциномом. ММП се могу поделити у шест субгрупа. ММП-2 и ММП-9 имају способност да униште колаген тип IV, који чини важну компоненту базалне мембране. Ово је кључни моменат, који је неопходан за туморски раст и метастазирање. Неки публиковани радови су показали да ММП-2 и ММП-9 могу играти важну улогу у прогресији планоцелуларног карцинома регије главе и врата. Идентификација пацијената са високим ризиком за развој малигнитета, присуство накнадног локорегионалног рецидива, као и постојање регионалних метастаза веома су важни за прогнозу болести, као и за избор најбољег начина лечења. Циљ овог истраживања је био да процени клинички значај ММП-2 и ММП-9 експресије у ткивним узорцима планоцелуларног карцинома ларинкса, поредећи глотични и субглотични субрегион.

У истраживање је било укључено укупно 140 болесника, од тога 70 са патохистолошки верификованим планоцелуларним карциномом ларинкса и 70 са хроничним ларингитисом. Испитаници са карциномом ларинкса су разврстани по групама у односу на: локализацију тумора у ларинксу (супраглотична, глотична); TNM стадијума болести ($T1/T2$, $T3/T4$, $N0$ односно $N+$, $M0$ односно $M+$); стадијум болести (I, II, III и IV); степен диферентованости ћелија тумора (добро, умерено, слабо); начина ћелијског раста (вегетантни, инфилтративни, мешовити); развој локорегионалног рецидива (са или без рецидива болести); присуства перинеуралне инвазије (са или без перинеуралне инвазије); присуства лимфоваскуларне инвазије (са или без лимфоваскуларне инвазије); петогодишње преживљавање (са или без петогодишњег преживљавања). Пацијенти са карциномом ларинкса су дијагностиковани, лечени и праћени у периоду од минимум 5 година, између 2010. и 2017. у Клиници за оториноларингологију. Контролну групу су чинили пацијенти код којих је, у истом периоду, дијагностикован и лечен хронични ларингитис. Патохистолошка верификација тумора ларинкса и имунохистохемијске анализе вршене су у Институту за патологију, од стране истих, искусних патолога. Критеријум за

укључивање у студију су били патохистолошки верификовани планоцелуларни карциноми ларинкса и патохистолошки верификоване хроничне промене у ларингеалној слузници. Критеријуми за искључење из студије су била друга малигна обољења, претходно спроведена зрачна или полихемиотерапија или већ раније извршено хируршко уклањање тумора. Затим, системске болести са захватањем ларинкса, бенигни псеудотумори ларинкса.

Просечна старост пацијената је била 59,41 ($\pm 7,1$), са распоном од 40 до 79 година. Било је 60 (85,7%) мушкараца и 10 (14,3%) жена. Карцином глотичне регије био је заступљен код 45 (64,3%) пацијената, просечне старости 59,7 ($\pm 6,8$) година, а супраглотичног региона код 25 (35,7%) пацијента, просечне старости 58,8 ($\pm 7,7$). Већина пацијената са глотичним карциномом били су у Т1/Т2 стадијуму болести, док је већина пацијента са супраглотичним карциномом била у Т3/Т4 стадијуму. Није откривена значајна разлика у петогодишњем преживљавању између пацијената са глотичним и супраглотичним карциномом. Резултати су показали значајну вишу ММП-2 и ММП-9 експресију и у епителу и у строми ткивних узорака карцинома ларинкса оба субрегиона у поређењу са пацијентима који су имали хронични ларингитис.

Рад је показао да ниво експресије епителијалне ММП-2 није у корелацији са Т, N или клиничким стадијумом болести и петогодишњим преживљавањем. Код супраглотичних карцинома, ММП-2 је била у корелацији са присуством перинеуралне и лимфоваскуларне инвазије. Уочена је и повезаност између епителијалне ММП-2 експресије и појаве локалног рецидива карцинома супраглотичне локализације. Такође, нађена је негативна корелација између хистолошког стадијума супраглотичног карцинома и нивоа експресије ММП-2. Што се тиче туморског раста, откривена је статистичка значајност. ММП-2 ћелијска експресија је у директој корелацији са вегетативним туморским растом глотичних карцинома.

Истраживање није открило повезаност између епителијалне ММП-9 експресије и неких клиничкопатолошких карактеристика (Т стадијум, N стадијум, клинички или хистолошки стадијум) нити корелацију са DFI и петогодишњим преживљавањем. Епителијална ММП-9 експресија је у значајној корелацији са присуством лимфоваскуларне инвазије и са вегетативним начином раста глотичних тумора. Код пацијената са карциномом супраглотичне локализације, нису нађени сличне релације. Није детектована статистички значајна корелација између експресије ММП-9 у епителијалним ћелијама и перинеуралном инвазијом код карцинома ларинкса.

Ово истраживање је показало високу експресију ММП-2 и ММП-9 и у епителу и строми пацијената са планоцелуларним карциномом у поређењу са пацијентима са хроничним ларингитисом. Наши резултати указују да би ММП-2 експресија могла послужити као потенцијални параметар за откривање пацијената са супраглотичним карциномом ларинкса, који су у високом ризику за развој перинеуралне и лимфоваскуларне инвазије, односно развој локалног рецидива болести. ММП-9 експресија би могла бити предиктор вегетативног начина туморског раста и присуства лимфоваскуларне инвазије у карциному глотичне сублокализације.

Кључне речи. Ларинкс; Планоцелуларни карцином; Имунохистохемија; Матрикс металопротеиназе; Биомаркери.

Abstract

Laryngeal malignant tumours consist about 1-2% of all malignant tumours in human population. Laryngeal squamous cell carcinoma (LSCC) is more common in male than in female population, occurring usually between the fifth and seventh decade of life. The most important etiological factors for LSCC are tobacco smoking, consumption of alcoholic drinks, gastroesophageal reflux, human papilloma virus (HPV) infections, air pollution, a diet low in fruits and vegetables. Prognosis of LSCC depends on the regional involvement of malignant disease, actual stage of disease, which can be determined by Tumour Node Metastasis (TNM) classification. Survival is significantly reduced due to the cancer development and spread of disease (local or regional recurrence and of distant metastasis occurrence). In recent years, molecular investigations have discovered many mechanisms of oncogenesis in malignant tumours. Expression of the specific tumour markers is associated with disease development and biological behavior of laryngeal carcinoma. Prognostic value identification of some tumour markers would be of great help in selecting treatment modalities, which is of crucial significance for prognosis of disease.

Matrix metalloproteinases (MMPs) are family of 23 endopeptidases, structurally very similar proteolytic enzymes which have ability to degrade extracellular matrix components. Thus, MMPs play important role in tumour progression and metastasis. Elevated levels of MMPs can be detected in tumour tissue and serum of patients with advanced cancer. MMPs can be divided into 6 subgroups. MMP-2 and MMP-9 have ability to destroy the type IV collagen, which is a very important component of basement membrane. This is a key moment, which is necessary for tumour growth and distant metastasis. Some published papers showed that MMP-2 and MMP-9 may play important roles in progression of head and neck squamous cell carcinoma. Identification of patients with high risk for tumour development, the presence of subsequent locoregional tumour recurrence, as well as the existence of regional metastases are very important for prognosis of disease, as well as for the choose the best treatment modality. The purpose of the investigation was to evaluate the clinical significance of MMP-2 and MMP-9 expression in tissue samples of patients with LSCC, comparing glottic and supraglottic region of larynx.

This study included a total of 140 patients, 70 with histologically verified LSCC and 70 with chronic laryngitis. Patients with malignant tumour were divided into groups with respect to: localization in larynx (supraglottic, glottic); TNM stage of disease (*T1/T2*, *T3/T4*, *N0*, *N+*, *M0*, *M+*); disease stage (I, II, III, IV); degree of tumour differentiation (good, moderate, poor); type of tumour growth (infiltrative, exophytic, mixed); development of loco-regional recurrence (with or without disease recurrence); the presence of perineural invasion (with or without of perineural invasion); lymphovascular invasion (with or without lymphovascular invasion) and 5-year survival (with or without 5-year survival). The patients diagnosed, treated and followed-up for a period of minimum 5 years between 2010 and 2017 for LSCC in Department of Otorhinolaryngology. The control group consisted of patients diagnosed and treated for chronic laryngitis in the same period. Pathological and immunohistochemical analyses of tissue specimens were performed at the Institute for Pathology by the same experienced pathologist.

Criteria for inclusion in the study were histologically verified LSCC and histologically verified chronic inflammatory changes in laryngeal mucosa. Criteria for exclusion from the study were other malignant diseases, previous radiotherapy or chemotherapy, previously performed surgical treatment of laryngeal tumour. Then, systemic diseases affecting the larynx, laryngeal benign pseudotumours.

The mean patients' age was 59.41 (± 7.1) years, range from 40–79 years. There were 60 (85.7%) male and 10 (14.3%) female patients. There were 45 (64.3%) patients with glottic SCC, mean age 59.7 (± 6.8) years and 25 (35.7%) with supraglottic SCC, the mean age of 58.8 (± 7.7). The majority of patients with glottic SCC were in T1/T2 stage, whereas the majority of supraglottic SCC patients were in T3/T4 stage. There is no significant difference regarding the 5-year survival between glottic and supraglottic SCC. Results revealed significantly higher MMP-2 and MMP-9 expression in both epithelium and stromal tissue specimens of patients with glottic and supraglottic SCC in comparison to patients with chronic laryngitis.

Study showed that epithelial MMP-2 expression is not in correlation with T, N or clinical stage and 5-year survival. In supraglottic SCC, the MMP-2 epithelial expression was in correlation with the presence of perineural and lymphovascular invasion. It was noticed a correlation between the epithelial MMP-2 expression and local recurrences of the primary supraglottic cancer. Also, a negative significant correlation was recorded between the MMP-2 epithelial expression and histological stage in supraglottic SCC. According to the tumor growth pattern, it was demonstrated a statistical significance. The MMP-2 tumor cell expression was in correlation with the presence of exophytic type of tumour growth in glottic SCC. The present study revealed no correlation between the epithelial MMP-9 expression and some clinicopathological characteristics (T stage, N stage, clinical or histological stage) nor the correlation with disease-free interval and 5-year survival. Epithelial MMP-9 expression significantly correlates with the presence of lymphovascular invasion and with the presence of exophytic type of the tumor growth in glottic SCC. In patients with supraglottic localization of SCC, there were no similar relationships. It was found no statistical relationship between the expression of MMP-9 in epithelial cells and perineural invasion in the laryngeal SCC.

This study demonstrated higher expression of MMP-2 and MMP-9 in both epithelium and stroma of patients with LSCC in comparison to patients with chronic laryngitis. The results suggest that MMP-2 expression can serve as a potential parameter for detection of patients with supraglottic SCC who are at high risk for perineural and lymphovascular invasion and developing disease recurrence. MMP-9 expression can be a strong predictor for the presence of exophytic type of tumour growth, as well as for the presence of lymphovascular invasion in glottic SCC.

Key words. Larynx; Squamous cell carcinoma; Immunohistochemistry; Matrix metalloproteinases; Biomarkers.

САДРЖАЈ

1. УВОД.....	1
1.1. АНАТОМИЈА ЛАРИНКСА.....	1
1.2. ЕПИДЕМИОЛОГИЈА КАРЦИНОМА ЛАРИНКСА.....	4
1.3. ЕТИОЛОГИЈА КАРЦИНОМА ЛАРИНКСА.....	5
1.4. КЛИНИЧКОПАТОЛОШКЕ КАРАКТЕРИСТИКЕ КАРЦИНОМА ЛАРИНКСА.....	7
2. ЦИЉЕВИ И ХИПОТЕЗЕ СТУДИЈЕ.....	14
2.1. ЦИЉЕВИ СТУДИЈЕ.....	14
2.2. ХИПОТЕЗЕ СТУДИЈЕ.....	14
3. МАТЕРИЈАЛ И МЕТОД.....	15
3.1. ДИЗАЈН СТУДИЈЕ.....	15
3.2. ПОПУЛАЦИЈА.....	15
3.3. УЗОРКОВАЊЕ И АНАЛИЗА.....	15
3.4. СНАГА СТУДИЈЕ И ВЕЛИЧИНА УЗОРКА.....	16
3.5. СТАТИСТИЧКА ОБРАДА ПОДАТАКА.....	17
4. РЕЗУЛТАТИ.....	18
4.1. ДЕМОГРАФСКЕ КАРАКТЕРИСТИКЕ ИСПИТАНИКА.....	18
4.1.1. ДИСТРИБУЦИЈА ПАЦИЈЕНАТА СА КАРЦИНОМОМ ЛАРИНКСА ПРЕМА ПОЛУ И СТАРОСТИ.....	18
4.1.2. ДИСТРИБУЦИЈА ПАЦИЈЕНАТА СА КАРЦИНОМОМ ЛАРИНКСА ПРЕМА СТАРОСНОЈ ДОБИ У ОДНОСУ НА СУБРЕГИОН.....	19
4.1.3. ДИСТРИБУЦИЈА ПАЦИЈЕНАТА СА КАРЦИНОМОМ ЛАРИНКСА ПРЕМА ШТЕТНИМ НАВИКАМА У ОДНОСУ НА СУБРЕГИОН.....	19
4.1.3.1. ДИСТРИБУЦИЈА ПАЦИЈЕНАТА СА КАРЦИНОМОМ ЛАРИНКСА ПРЕМА ПУШАЧКИМ НАВИКАМА У ОДНОСУ НА СУБРЕГИОН.....	19

4.1.3.2. ДИСТРИБУЦИЈА ПАЦИЈЕНАТА СА КАРЦИНОМОМ ЛАРИНКСА ПРЕМА КОНЗУМАЦИЈИ АЛКОХОЛА У ОДНОСУ НА СУБРЕГИОН.....	20
4.1.4. ДИСТРИБУЦИЈА ПАЦИЈЕНАТА СА КАРЦИНОМОМ ЛАРИНКСА ПРЕМА ГЕРБ У ОДНОСУ НА СУБРЕГИОН.....	21
4.1.5. ДИСТРИБУЦИЈА ПАЦИЈЕНАТА СА КАРЦИНОМОМ ЛАРИНКСА ПРЕМА КОНЗУМАЦИЈИ ФОЛАТА У ОДНОСУ НА СУБРЕГИОН.....	22
4.1.6. ДИСТРИБУЦИЈА ПАЦИЈЕНАТА СА КАРЦИНОМОМ ЛАРИНКСА ПРЕМА ПОЗИТИВНОЈ ПОРОДИЧНОЈ АНАМНЕЗИ У ОДНОСУ НА СУБРЕГИОН.....	23
4.2. ДИСТРИБУЦИЈА ПАЦИЈЕНАТА СА КАРЦИНОМОМ ЛАРИНКСА ПРЕМА КЛИНИЧКОПАТОЛОШКИМ КАРАКТЕРИСТИКАМА ТУМОРА У ОДНОСУ НА СУБРЕГИОН.....	25
4.2.1. ДИСТРИБУЦИЈА ПАЦИЈЕНАТА СА КАРЦИНОМОМ ЛАРИНКСА ПРЕМА <i>T</i> И <i>N</i> СТАДИЈУМУ БОЛЕСТИ У ОДНОСУ НА СУБРЕГИОН.....	25
4.2.1.1. ДИСТРИБУЦИЈА ПАЦИЈЕНАТА СА КАРЦИНОМОМ ЛАРИНКСА ПРЕМА <i>T</i> СТАДИЈУМУ БОЛЕСТИ У ОДНОСУ НА СУБРЕГИОН.....	25
4.2.1.2. ДИСТРИБУЦИЈА ПАЦИЈЕНАТА СА КАРЦИНОМОМ ЛАРИНКСА ПРЕМА <i>N</i> СТАДИЈУМУ БОЛЕСТИ У ОДНОСУ НА СУБРЕГИОН.....	26
4.2.2. ДИСТРИБУЦИЈА ПАЦИЈЕНАТА СА КАРЦИНОМОМ ЛАРИНКСА ПРЕМА <i>M</i> СТАДИЈУМУ БОЛЕСТИ У ОДНОСУ НА СУБРЕГИОН.....	27
4.2.3. ДИСТРИБУЦИЈА ПАЦИЈЕНАТА СА КАРЦИНОМОМ ЛАРИНКСА ПРЕМА ДИСЕКЦИЈАМА ВРАТА У ОДНОСУ НА СУБРЕГИОН.....	27
4.2.4. ДИСТРИБУЦИЈА ПАЦИЈЕНАТА СА КАРЦИНОМОМ ЛАРИНКСА ПРЕМА ХИСТОЛОШКОМ ГРАДУСУ ТУМОРА У ОДНОСУ НА СУБРЕГИОН.....	29
4.2.5. ДИСТРИБУЦИЈА ПАЦИЈЕНАТА СА КАРЦИНОМОМ ЛАРИНКСА ПРЕМА СТАДИЈУМУ БОЛЕСТИ У ОДНОСУ НА СУБРЕГИОН.....	30
4.2.6. ДИСТРИБУЦИЈА ПАЦИЈЕНАТА СА КАРЦИНОМОМ ЛАРИНКСА ПРЕМА ПЕРИНЕУРАЛНОЈ ИНВАЗИЈИ У ОДНОСУ НА СУБРЕГИОН.....	31

4.2.7. ДИСТРИБУЦИЈА ПАЦИЈЕНАТА СА КАРЦИНОМОМ ЛАРИНКСА ПРЕМА ЛИМФОВАСКУЛАРНОЈ ИНВАЗИЈИ У ОДНОСУ НА СУБРЕГИОН.....	32
4.2.8. ДИСТРИБУЦИЈА ПАЦИЈЕНАТА СА КАРЦИНОМОМ ЛАРИНКСА ПРЕМА НАЧИНУ ТУМОРСКОГ РАСТА У ОДНОСУ НА СУБРЕГИОН.....	33
4.2.9. ДИСТРИБУЦИЈА ПАЦИЈЕНАТА СА КАРЦИНОМОМ ЛАРИНКСА ПРЕМА ПОЈАВИ ЛОКАЛНОГ РЕЦИДИВА У ОДНОСУ НА СУБРЕГИОН.....	34
4.2.10. ДИСТРИБУЦИЈА ПАЦИЈЕНАТА СА КАРЦИНОМОМ ЛАРИНКСА ПРЕМА РАЗВОЈУ РЕГИОНАЛНОГ ШИРЕЊА БОЛЕСТИ У ОДНОСУ НА СУБРЕГИОН.....	35
4.2.11. ДИСТРИБУЦИЈА ПАЦИЈЕНАТА СА КАРЦИНОМОМ ЛАРИНКСА ПРЕМА ПЕТОГОДИШЊЕМ ПРЕЖИВЉАВАЊУ У ОДНОСУ НА СУБРЕГИОН.....	36
4.3. ПОРЕЂЕЊЕ ПАЦИЈЕНАТА СА КАРЦИНОМОМ ЛАРИНКСА И ХРОНИЧНИМ ЛАРИНГИТИСОМ ПРЕМА ЕКСПРЕСИЈИ ММП-2 и ММП-9.....	38
4.4. ПОРЕЂЕЊЕ ПАЦИЈЕНАТА СА КАРЦИНОМОМ ЛАРИНКСА ПРЕМА ЕКСПРЕСИЈИ ММП-2 и ММП-9 У ОДНОСУ НА СУБРЕГИОН.....	42
4.4.1. ПОРЕЂЕЊЕ ПАЦИЈЕНАТА СА КАРЦИНОМОМ ЛАРИНКСА ПРЕМА ЕКСПРЕСИЈИ ПОЈЕДИНАЧНИХ ММП-2 и ММП-9 У ОДНОСУ НА СУБРЕГИОН.....	42
4.4.2. ПОРЕЂЕЊЕ ПАЦИЈЕНАТА СА КАРЦИНОМОМ ЛАРИНКСА ПРЕМА НИВОУ ЕКСПРЕСИЈЕ ПОЈЕДИНАЧНИХ ММП-2 и ММП-9 У ОДНОСУ НА СУБРЕГИОН.....	44
4.5. ПОРЕЂЕЊЕ ПАЦИЈЕНАТА СА КАРЦИНОМОМ ЛАРИНКСА ПРЕМА ГУСТИНИ СУБЕПИТЕЛИЈАЛНЕ ЛИМФОЦИТНЕ И ЕОЗИНОФИЛНЕ ИНФИЛТРАЦИЈЕ И ЕКСПРЕСИЈИ ММП-2 и ММП-9.....	47
4.6. ПОРЕЂЕЊЕ ПАЦИЈЕНАТА СА КАРЦИНОМОМ ЛАРИНКСА ПРЕМА ШТЕТНИМ НАВИКАМА И ЕКСПРЕСИЈИ ММП-2 и ММП-9.....	49
4.6.1. ПОРЕЂЕЊЕ ПАЦИЈЕНАТА СА КАРЦИНОМОМ ЛАРИНКСА ПРЕМА ПУШАЧКИМ НАВИКАМА И ЕКСПРЕСИЈИ ММП-2 и ММП-9.....	49

4.6.2. ПОРЕЂЕЊЕ ПАЦИЈЕНАТА СА КАРЦИНОМОМ ЛАРИНКСА ПРЕМА КОНЗУМАЦИЈИ АЛКОХОЛА И ЕКСПРЕСИЈИ ММП-2 и ММП-9.....	51
4.7. ПОРЕЂЕЊЕ ПАЦИЈЕНАТА СА КАРЦИНОМОМ ЛАРИНКСА ПРЕМА ГЕРБ И ЕКСПРЕСИЈИ ММП-2 и ММП-9.....	52
4.8. ПОРЕЂЕЊЕ ПАЦИЈЕНАТА СА КАРЦИНОМОМ ЛАРИНКСА ПРЕМА ЕКСПРЕСИЈИ ММП-2 и ММП-9 И КЛИНИЧКОПАТОЛОШКИМ КАРАКТЕРИСТИКАМА ТУМОРА У ОДНОСУ НА СУБРЕГИОН.....	54
4.8.1. ПОРЕЂЕЊЕ ПАЦИЈЕНАТА СА КАРЦИНОМОМ ЛАРИНКСА ПРЕМА ЕКСПРЕСИЈИ ММП-2 И КЛИНИЧКОПАТОЛОШКИМ КАРАКТЕРИСТИКАМА ТУМОРА У ОДНОСУ НА СУБРЕГИОН.....	54
4.8.1.1. ПОРЕЂЕЊЕ ПАЦИЈЕНАТА СА КАРЦИНОМОМ ЛАРИНКСА ПРЕМА ЕКСПРЕСИЈИ ММП-2 И T , ОДНОСНО N СТАДИЈУМУ БОЛЕСТИ У ОДНОСУ НА СУБРЕГИОН.....	54
4.8.1.2. ПОРЕЂЕЊЕ ПАЦИЈЕНАТА СА КАРЦИНОМОМ ЛАРИНКСА ПРЕМА ЕКСПРЕСИЈИ ММП-2 И ХИСТОЛОШКОМ СТЕПЕНУ ДИФЕРЕНЦИЈАЦИЈЕ ТУМОРА У ОДНОСУ НА СУБРЕГИОН.....	55
4.8.1.3. ПОРЕЂЕЊЕ ПАЦИЈЕНАТА СА КАРЦИНОМОМ ЛАРИНКСА ПРЕМА ЕКСПРЕСИЈИ ММП-2 И СТАДИЈУМУ БОЛЕСТИ, ОДНОСНО ПЕТОГОДИШЊЕМ ПРЕЖИВЉАВАЊУ У ОДНОСУ НА СУБРЕГИОН.....	55
4.8.1.4. ПОРЕЂЕЊЕ ПАЦИЈЕНАТА СА КАРЦИНОМОМ ЛАРИНКСА ПРЕМА ЕКСПРЕСИЈИ ММП-2 И НАЧИНУ ТУМОРСКОГ РАСТА У ОДНОСУ НА СУБРЕГИОН.....	57
4.8.1.5. ПОРЕЂЕЊЕ ПАЦИЈЕНАТА СА КАРЦИНОМОМ ЛАРИНКСА ПРЕМА ЕКСПРЕСИЈИ ММП-2 И ЛОКАЛНОМ, ОДНОСНО РЕГИОНАЛНОМ РЕЦИДИВУ БОЛЕСТИ У ОДНОСУ НА СУБРЕГИОН.....	58
4.8.1.6. ПОРЕЂЕЊЕ ПАЦИЈЕНАТА СА КАРЦИНОМОМ ЛАРИНКСА ПРЕМА ЕКСПРЕСИЈИ ММП-2 И ЛИМФОВАСКУЛАРНОЈ И ПЕРИНЕУРАЛНОЈ ИНВАЗИЈИ У ОДНОСУ НА СУБРЕГИОН.....	58
4.8.2. ПОРЕЂЕЊЕ ПАЦИЈЕНАТА СА КАРЦИНОМОМ ЛАРИНКСА ПРЕМА ЕКСПРЕСИЈИ ММП-9 И КЛИНИЧКОПАТОЛОШКИМ КАРАКТЕРИСТИКАМА ТУМОРА У ОДНОСУ НА СУБРЕГИОН.....	60
4.8.2.1. ПОРЕЂЕЊЕ ПАЦИЈЕНАТА СА КАРЦИНОМОМ ЛАРИНКСА ПРЕМА ЕКСПРЕСИЈИ ММП-9 И T , ОДНОСНО N СТАДИЈУМУ БОЛЕСТИ У ОДНОСУ НА СУБРЕГИОН.....	60

4.8.2.2. ПОРЕЂЕЊЕ ПАЦИЈЕНАТА СА КАРЦИНОМОМ ЛАРИНКСА ПРЕМА ЕКСПРЕСИЈИ ММП-9 И ХИСТОЛОШКОМ ГРАДУСУ, СТАДИЈУМУ БОЛЕСТИ, ОДНОСНО ПЕТОГОДИШЊЕМ ПРЕЖИВЉАВАЊУ У ОДНОСУ НА СУБРЕГИОН.....	61
4.8.2.3. ПОРЕЂЕЊЕ ПАЦИЈЕНАТА СА КАРЦИНОМОМ ЛАРИНКСА ПРЕМА ЕКСПРЕСИЈИ ММП-9 И НАЧИНУ ТУМОРСКОГ РАСТА У ОДНОСУ НА СУБРЕГИОН.	62
4.8.2.4. ПОРЕЂЕЊЕ ПАЦИЈЕНАТА СА КАРЦИНОМОМ ЛАРИНКСА ПРЕМА ЕКСПРЕСИЈИ ММП-9 И ЛОКАЛНОМ, ОДНОСНО РЕГИОНАЛНОМ РЕЦИДИВУ БОЛЕСТИ У ОДНОСУ НА СУБРЕГИОН.....	63
4.8.2.5. ПОРЕЂЕЊЕ ПАЦИЈЕНАТА СА КАРЦИНОМОМ ЛАРИНКСА ПРЕМА ЕКСПРЕСИЈИ ММП-9 И ЛИМФОВАСКУЛАРНОЈ И ПЕРИНЕУРАЛНОЈ ИНВАЗИЈИ У ОДНОСУ НА СУБРЕГИОН.....	64
5. ДИСКУСИЈА.....	66
6. ЗАКЉУЧЦИ.....	77
7. ЛИТЕРАТУРА.....	79

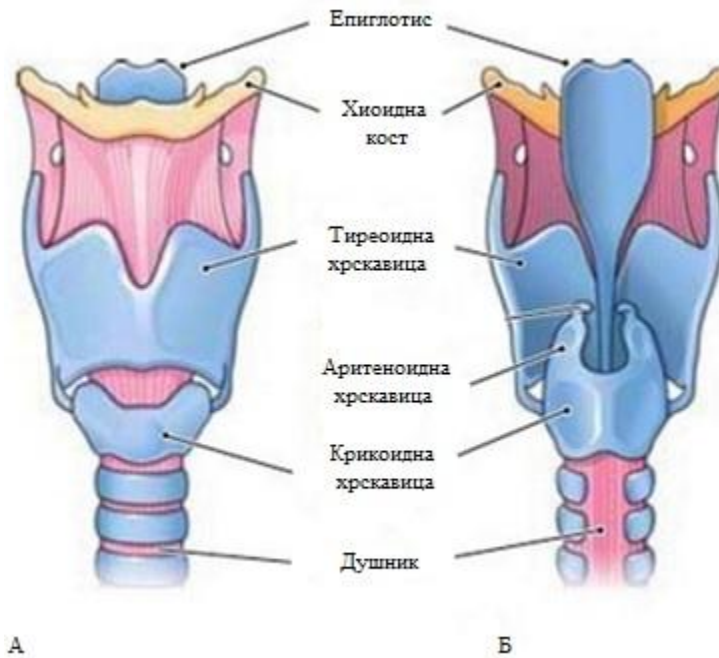
1. УВОД

1.1. АНАТОМИЈА ЛАРИНКСА

Гркљан (*larynx*) је непаран орган, који се налази у средишњем делу предњег дела врата у нивоу од трећег до шестог вратног пршљена, испод подјезичне кости, а изнад душника. У блиском контакту је са околним мишићима врата, великим крвним судовима, једњаком, штитастом жлездом. Епител ларинкса је порекла ендодерма, а мишићи и хрскавице порекла мезенхима четвртог и шестог шкржног лука (1). Зидови гркљана су сложене грађе. Њихову основу чине велики број хрскавица (*cartilagine laryngis*), које се међусобно спајају помоћу два покретна зглоба, крикоаритеноидног (*art. cricoarytenoidea*) и крикотиреоидног (*art. cricothyreoidea*), као и помоћу више веза и мишића. Главне хрскавице ларинкса су штитаста (*cartilago thyreoidea*), капачна (*cartilago epiglottica*), прстенаста (*cartilago cricoidea*) и парне зделасте (*cartilagine arytenoideae*) (Слика 1). Током живота, тиреоидна, крикоидна и аритеноидне хрскавице, осим вокалног наставка, окоштавају. Места осификације су погодна за ширење малигног процеса са слузнице на хрскавицу ларинкса (2). Унутрашњост гркљана обложена је слузницом (*tunica mucosa laryngis*), чији је епител већим делом респираторног (цилиндричан са трепљама) типа, а један мањи плочасто-слојевитог, без орожавања. Субепителијално ткиво, чини растресито везивно ткиво са мешовитим жлездама, којих најмање има у пределу слободних ивица гласница.

Мишиће ларинкса делимо на спољашње и унутрашње. Спољашњи мишићи спајају ларинкс са околним структурама врата и имају улогу у подизању, односно спуштању гркљана и у рефлексу гутања (3). Унутрашњи мишићи покрећу, односно затежу гласнице, те учествују у формирању гласа и дисању.

Слика 1. Схематски приказ главних хрскавица гркљана

А) спољашњи; Б) унутрашњи; Модификовано са www.encyclopedia.lubopitko-bg.com

Ларинкс се анатомски дели на супраглотични, глотични и субглотични регион. Подела има клинички значај, јер се у зависности од локализације тумора, може предвидети његово понашање и локорегионално ширење. Ова клиничкопатолошка разлика је донекле условљена различитом ембрионалном пореклу и различитој лимфној дренажи, појединих спратова ларинкса. Супраглотични регион чине епиглотис, ариепиглотски набори, аритеноиди, вентрикуларни набори и Морганијеви вентрикулуси. Глотични регион чине гласнице, предња комисура и отвор глотиса (*rima glottidis*). Субглотични регион се пружа од доње површине гласница до доње ивице крикоида (4).

Артеријска васкуларизација потиче од горње и доње ларингеалне артерије (*a. laryngeus superior et a. laryngeus inferior*) и крикотироидне артерије (*a. cricothyreoidea*), а све су гране горње и доње тироидне артерије (*a. thyreoidea superior et a. thyreoidea inferior*). Венски крвни судови прате артеријске и сви се преко горње и доње тироидне вене (*v. thyreoidea superior et v. thyreoidea inferior*) уливају у унутрашњу југуларну (*v. jugularis interna*) и леву брахиоцефаличну вену (*v. brachiocephalica sinistra*) (5).

Инервација ларинкса потиче од грана десетог кранијалног нерва (*n. vagus*). Горњи ларингеални живац (*n. laryngeus superior*) је мешовити нерв, чија сензитивна грана инервише истострану половину супраглотичног спрата ларинкса, а моторна инервише

крикотиреоидни мишић (*m. cricothyreoideus*). Доњи или повратни ларингеални живац (*n. laryngeus inferior seu recurrens*) је мешовити нерв чија сензитивна грана инервише субглотис, а моторна инервише све унутрашње мишиће ларинкса, осим крикотиреоидног мишића. Сензитивна инервација глотичне регије потиче од грана оба ларингеална живца.

Опште прихваћену поделу лимфних чворова врата дала је Америчка академија за отоларингологију, хирургију главе и врата (*American Academy of Otolaryngology Head and Neck Surgery*) 1991. године, којом се сви регионални лимфни чворови врата деле на 6 нивоа (Слика 2) (6,7). Ревизија класификације извршена је од стране Америчке академије 2002. године с циљем да се прецизније одреде границе субрегиона врата, а поједини нивои су подељени на поднивое (7,8). Савремена класификација лимфних нодуса врата даје могућност да се предвиди пут дисеминације болести и самим тим планира најбољи модалитет лечење. Међутим, треба имати увиду да постоје анатомске комуникације између појединих нивоа врата, те да су могућа одступања (9).

Лимфне чворове врата делимо на:

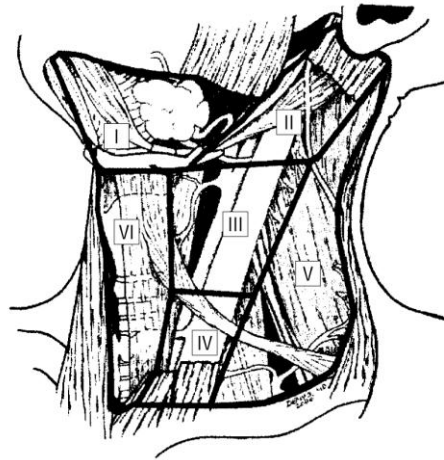
- Ниво I (поднивои IA и IB)

Подниво IA (субментална група)- Ови лимфни чворови су под највећим ризиком за метастазе карцинома пода усне дупље, предње 2/3 језика и доње усне (10).

Подниво IB (субмандибуларна група)- Ови лимфни нодуси су под највећим ризиком за метастазе карцинома усне шупљине, предњег дела носне шупљине, меких ткива и коже средине лица и субмандибуларне жлезде.

- Ниво II (горња југуларна група је подељена на поднивое IIA и IIB)- Горња југуларна група лимфних чворова је под највећим ризиком за метастазе карцинома носне шупљине, назофаринкса, усне шупљине, орофаринкса, хипофаринкса, ларинкса и паротидне жлезде.
- Ниво III (средња југуларна група)- Ови лимфни нодуси су под највећим ризиком за метастазе карцинома назофаринкса, усне шупљине, орофаринкса, хипофаринкса и ларинкса.
- Ниво IV (доња југуларна група)- Доња југуларна група лимфних чворова је под највећим ризиком за метастазе карцинома хипофаринкса, ларинкса, штитасте жлезде и карцинома цервикалног једњака.
- Ниво V (група задњег троугла је подељена на поднивое VA и VB)- Лимфни чворови задњег троугла су под највећим ризиком за метастазе карцинома назофаринкса, орофаринкса и кожных структура задње стране главе и врата.
- Ниво VI (група предњег компартмента)- Ови лимфни нодуси су под највећим ризиком за метастазе карцинома глотичног и субглотичног региона ларинкса, врха пириформног синуса, штитасте жлезде и цервикалног дела једњака.

Лимфна дренажа структура ларинкса се завршава у дубоким лимфним чворовима II, III и IV нивоа врата, с тим да се супраглотична лимфна мрежа завршава у горњој и средњој, а субглотична у доњој југуларној групи (11). Гласнице немају лимфне судове, те представљају место раздвајања супраглотичног и субглотичног лимфотока.

Слика 2. Схематски приказ поделе лимфних чворова врата (7)

Ларинкс се налази на раскрсници респираторног и дигестивног система. Његова основна улога је у дисању, заштити доњих респираторних путева током акта гутања, а секундарна у формирању гласа (12).

1.2. ЕПИДЕМИОЛОГИЈА КАРЦИНОМА ЛАРИНКСА

Малигни тумори ларинкса чине око 1-2% свих малигнух тумора (13). Карцином ларинкса је много чешћи у мушкој, него у женској популацији. Обично се јавља између пете и седме деценије живота.

Стандардизоване стопе инциденције за рак ларинкса, израчунате коришћењем светске стандардне популације је 2,0 на 100.000 становника, с тим да је 3,6 код мушкараца и 0,48 код жена. Стандардизована стопа смртности од тумора гркљана је 1,9 код мушкараца и 0,27 код жена (14). У централној Србији, године 2015. карциноми гркљана су код мушкараца били на шестом месту по учесталости, односно чинили су 3,5% свих малигнух тумора (15). Плућа, односно бронх, представља водећу локализацију у умирању од малигнух тумора код мушкараца. Стопа инциденције од рака гркљана износила је 20,3 на 100.000 становника за мушкарце, док је стандардизована стопа инциденције износила 10,3. Стопа морталитета је била 9,6 на 100.000 становника, док је 4,7 износила стандардизована стопа, а све се односи на мушку популацију. Посматрајући узраст оболелих, карциноми ларинкса су се доминантно јављали између 60 и 64 године живота, код оба пола. Стопа смртности је такође била највећа у овој доби. У већини европских држава, постоји тренд смањења стопе смртности од рака гркљана, која се у периоду 1991-2012. смањила код мушкараца за 3,3% годишње. Овај резултат се објашњава смањењем употребом дувана, нарочито код средовечних и редукцијом конзумације алкохола, пре свега у медитеранским државама (16,17).

1.3. ЕТИОЛОГИЈА КАРЦИНОМА ЛАРИНКСА

Етиопатогенеза малигнух болести гркљана није сасвим разјашњена, али се спровођењем многих студија, закључује да малигнитет настаје комбинацијом генских промена и утицаја фактора спољашње средине.

У најзначајније етиолошке факторе за настанак карцинома ларинкса убрајају се: пушење цигарета, конзумација алкохолних пића, гастроезофагеални рефлукс, *ХПВ (human papilloma virus)* инфекција, аерозагађење, јонизујуће зрачење, исхрана сиромашна воћем и поврћем. Алкохол у комбинацији са дуваном, у знатној мери повећава ризик за настанак карцинома гркљана, нарочито супраглотичне регије (18). Биолошка природа њихове међусобне интеракције није сасвим разјашњена. Пушењу се преписује већи ризик за настанак карцинома ларинкса у односу на алкохол (70% према 26%) (19). Пушачи имају и до шест пута већу шансу да развију хипофарингеални или ларингеални карцином, него особе које нису никада запалиле цигарету (20). У недавно публикованим стручним радовима, доказано је скраћено време преживљавања код пацијената са вишегодишњим пушачким стажом (21). Познато је да цигарете садрже различите канцерогене супстанце (нитрозамини, полициклични ароматични угљоводоници и друге канцерогене), које долазећи у контакт са епителом гркљана делују на различите фазе процеса канцерогенезе (22). Уочена је позитивна корелација између броја попушених цигарета и пушачког стажа и ризика за настанак карцинома ларинкса, како код мушкараца, тако и код жена (23). По престанку пушења, ризик за настанак малигнитета се значајно смањује, након 16 и више година. Особе са пушачким стажом дужим од 50 год. имају десет пута већи ризик да оболе од рака супраглотичне, него глотичне регије ларинкса (24). У 5% до 30% случајева, карцином ларинкса је откривен код пацијената који нису пушачи (19).

Многе епидемиолошке студије су доказале да се алкохол може сматрати независним фактором ризика за настанак карцинома ларинкса. За алкохол није доказано директно канцерогено дејство на слuzницу ларинкса и других делова горњег аеродигестивног пута, већ се сматра да има секундарну улогу. Ризик за настанак тумора је мањи уколико је особа непушач и умерени конзумент алкохола. Са повећањем количине алкохола, повећава се и ризик за настанак малигнитета. Престанак узимања алкохолних пића, доводи до пада ризика, али након дужег временског периода. Иначе, није нађена статистички значајна разлика у врсти алкохолног пића, које се конзумира. Посматрајући регије ларинкса, постоји повезаност између злоупотребе алкохола и тумора супраглотиса у односу на туморе глотичне и субглотичне регије (24,25). Сматра се да вишегодишња употреба алкохолних пића, чини организам сензитивнијим за канцерогене, због нутритивног дефицита и поремећаја имунолошког система (26).

Гастроезофагеална рефлуksна болест (ГЕРБ) представља враћање садржаја желуца у горње аеродигестивне путеве. У неким студијама, чак 87% оболелих од ларингеалног карцинома су истовремено имала и ГЕРБ (27). Пацијенти често наводе присуство ГЕРБ, али још увек није утврђена повезаност између малигнитета и ГЕРБ, те се не сматра примарним ризико фактором за настанак болести (28). Оно што је евидентно је висока инциденца карцинома ларинкса код пацијента са гастроезофагеалним рефлуksом, код којих је присутна дуга

злоупотреба дувана и алкохола (29). Закључује се, да у механизму настанка тумора код пацијената са ГЕРБ, учествује хронично упаљена слузница ларинкса и неки од спољашњих фактора. Хронична упала је обично последица дуготрајне изложености садржају из желуца (30).

Орофарингеални карциноми, последњих година, имају тренд раста, а један од етиолошких фактора који се помиње је Хумани папилома вирус (*ХПВ*). Код карцинома орофаринкса, присуство *ХПВ* је у преко 50% ткивних узорака (31). Неке епидемиолошке студије, показале су да инфекција *ХПВ*, може бити и фактор ризика за настанак рака гркљана и да утиче на развој и исход болести (32,33). Резултати нису конзистентни, јер се стопа *ХПВ* инфекције креће од 8% до 83% (34). Већина истраживача, ову разлику у резултатима оправдава различитим методама за детекцију *ХПВ* инфекције и географском пореклу студија. Посматрајући типове вируса, *ХПВ* 16 се најчешће детектује у малигном тумору ларинкса, а ређе, типови 18, 45, 31 и 33 (35).

Постоје научни докази да и други етиолошки фактори могу допринети настанку малигног тумора ларинкса, укључујући и изложеност прабини (азбестној, металној, дрвној) (36). Прашину можемо сматрати промотором настанка карцинома из више разлога. Прво, хронична иритација слузнице ларинкса доводи до настанка хроничних инфламаторних промена из којих се може развити ћелијска атипичност или дисплазија различитог степена. Што је већи степен дисплазије то је потенцијално већа могућност развоја тумора. Друго, у прабини се могу наћи материје, које су доказано канцерогене. Резултати неких истраживања доказују утицај вишегодишњег излагања честицама металне прашине на настанак карцинома ларинкса (37).

Развој медицине и молекуларне биологије омогућује боље познавање природе настанка малигне болести. Последњих неколико декада, мутације појединих гена се повезују са настанком малигнитета, а самим тим и са настанком карцинома ларинкса. Резултати недавно спроведених студија, показују да се генетске промене могу јавити и више година пре појаве тумора (38). Гени који имају значајну улогу у малигној трансформацији ћелија и ширењу болести су: онкогени, тумор- супресор гени, фактори раста и рецептори и метастатски гени.

1.4. КЛИНИЧКОПАТОЛОШКЕ КАРАКТЕРИСТИКЕ КАРЦИНОМА ЛАРИНКСА

Посматрајући регион главе и врата, малигни тумори ларинкса имају највећу учесталост. Они могу бити епителног и мезенхималног порекла. Тумори епителног порекла или карциноми су много чешћи, у односу на саркоме (хондросаркоме, фибросаркоме и др.). Посматрајући хистолошки тип карцинома, у више од 90% случајева се ради о планоцелуларном, односно конвенционалном сквамозном карциному (39). Тако да када говоримо о карциномима ларинкса, ми углавном мислимо на сквамозелуларни карцином (Слика 3).

Развоју карцинома погодује слузница, код које је нарушена нормална архитектоника епитела, као што се виђа нпр. код дисплазије (40). Разликује се лака, средња и тешка дисплазија. Код тешке дисплазије архитектоника је измењена у више од 2/3 дебљине епитела. Промене су иреверзибилне, стога тешке дисплазије убрајамо у групу премалигних лезија (41).

Слика 3. Ендоскопски приказ карцинома ларинкса



После планоцелуларног карцинома, други по учесталости је верукозни карцином, а много ређе се виђа базалоидни, односно *spindle cell* или карциносарком (42). Осим планоцелуларног карцинома, у ларинксу се могу појавити неуроендокрини тумори, тумори малих пљувачних жлезда (*adenoid cystic carcinoma*), меланоми и метастатски тумори.

У односу на локализацију, карциноме ларинкса делимо на супрглотичне, глотичне и субглотичне. О трансглотичним туморима говоримо када тумор захвата најмање два ларингеална спрата или се шири у субглотис за више од 10 mm (43). Осим локализације, тумори имају и различито клиничко понашање. Субглотични карциноми су најређи, али метастазирају у регионалне лимфне чворове у 40% случајева (44). У нашој географској регији најзаступљенији су глотични тумори, који ретко дају метастазе.

Према начину раста карциноме ларинкса делимо на вегетантне, инфилтративне, вегетантно-инфилтративне (мешовите) и улцерозне. Вегетантни тумори захватају слузницу, док се инфилтративни шире у подслузницу. О улцерозним туморима говоримо када се у тумору појављују улцерације, изазване некрозом ћелија.

На основу степена диференцијације ћелија, планоцелуларне карциноме делимо на три хистолошка градуса (*HG*):

- *HG1* или добро диферентовани тип
- *HG2* или умерено диферентовани тип
- *HG3* или слабо диферентовани тип

Добро диферентовани карциноми имају најбољу прогнозу, а карактерише их добра кератинизација. Карциноми ларинкса су углавном умерено диферентовани, а одликују се појавом атипичних митоза и нешто слабијом кератинизацијом. Слабо диферентовани карциноми су најагресивнији, јер су склони ширењу болести, а карактеришу се великим бројем атипичних митоза и слабом кератинизацијом (45). Данас се све већи значај даје хистолошком граду, као прогностичком фактору (46).

Дијагностика карцинома ларинкса заснива се на добро узетој анамнези, оториноларинголошком прегледу са фиберендоскопијом, ларингомикроскопији, радиолошкој дијагностици (ЕХО, КТ, НМР, ПЕТ-КТ), лабораторијским анализама и интернистичком прегледу. Ларингомикроскопија са биопсијом и патохистолошком анализом узетог материјала је златни стандард за дијагнозу карцинома ларинкса.

По добијању дефинитивног патохистолошког налаза, који је потврдио присуство малигне болести, приступа се процени раширености болести и општег стања организма, у циљу одабира најбоњег модалитета лечења и предвиђања исхода болести. За процену знапредовалости болести, користи се *TNM* класификација. Америчко удружење за малигне болести (*American Joint Committee on Cancer, AJCC*) је установило *TNM* (*T*-Тумор, *N*- Нодус, *M*- Метстаза) систем, који нам даје податке о величини тумора и евентуалном присуству регионалних, односно удаљених метастаза (Табеле 1,2,3,4 и 5) (47).

Поред клиничке *cTNM*, по добијању патохистолошког налаза утврђује се и патолошка *pTNM* класификација, која има значајну прогностичку вредност. Стадијум болести се, такође, утврђује на основу *TNM* система (Табела 6).

Табела 1. T класификација планоцелуларног карцинома супраглотиса

Супраглотис	
Tx	Примарни тумор се не може одредити
T0	Нема знакова примарног тумора
Tis	Carcinoma in situ
T1	Тумор ограничен на једну сублокализацију супраглотиса са нормалном покретљивошћу гласница
T2	Тумор захвата слузницу више од једне суседне локализације супраглотиса или глотиса или региона изван супраглотиса (нпр. слузница базе језика, валекуле, медијални зид пириформног синуса) без фиксације ларинкса
T3	Тумор ограничен на ларинкс са фиксацијом гласница и/или захватњем неке од следећих структура: посткрикоидна регија, преепиглотисни простор, параглотисни простор и/или са инфилтрацијом унутрашњег кортекса штитасте хрскавице
T4a	Тумор се шири кроз штитасту хрскавицу и/или захвата ткива изван ларинкса, нпр. трахеју, мека ткива врата укључујући дубоке спољне мишиће језика (genioglossus, hypoglossus, palatoglossus и styloglossus) мишиће врата, штитасту жлезду, једњак
T4b	Тумор захвата превертебрални простор, каротидну артерију или медијастиналне структуре

Табела 2. Т класификација планоцелуларног карцинома глотиса

Глотис	
Tx	Примарни тумор се не може одредити
T0	Нема знакова примарног тумора
Tis	Carcinoma in situ
T1	Тумор ограничен на гласницу/е (може захватати предњу или задњу комисуру) са нормалном покретљивошћу
T1a	Тумор ограничен на једну гласницу
T1b	Тумор захвата обе гласнице
T2	Тумор се шири на супраглотис и/или субглотис и/или са смањеном покретљивошћу гласница
T3	Тумор ограничен на ларинкс са фиксацијом гласница и/или захватањем параглотисног простора и/или инфилтрацијом унутрашњег кортекса штитасте хрскавице
T4a	Тумор се шири кроз штитасту хрскавицу и/или захвата ткива изван ларинкса нпр. трахеју, мека ткива врата укључујући дубоке спољне мишиће језика (genioglossus, hypoglossus, palatoglossus и styloglossus) мишиће врата, штитасту жлезду, једњак
T4b	Тумор захвата превертебрални простор, каротидну артерију или медијастиналне структуре

Табела 3. T класификација планоцелуларног карцинома субглотиса

Субглотис	
Tx	Примарни тумор се не може одредити
T0	Нема знакова примарног тумора
Tis	Carcinoma in situ
T1	Тумор ограничен на субглотис
T2	Тумор се шири на гласницу/е са нормалном или смањеном покретљивошћу
T3	Тумор ограничен на ларинкс са фиксацијом гласница
T4a	Тумор захвата крикоидну и штитасту хрскавицу и/или захвата ткива изван ларинкса нпр. трахеју, мека ткива врата укључујући дубоке спољне мишиће језика (genioglossus, hypoglossus, palatoglossus и styloglossus) мишиће врата, штитасту жлезду, једњак
T4b	Тумор захвата превертебрални простор, каротидну артерију или медијастиналне структуре

Табела 4. N класификација лимфних чворова врата за планоцелуларне карциноме ларинкса

Регионални лимфни чворови	
Nx	Регионални лимфни чворови се не могу одредити
N0	Нема метастаза у регионалним лимфним чворовима
N1	Метастаза у једном ипсилатералном лимфном чвору $\leq 3\text{cm}$ у највећој димензији без екстранодалног ширења
N2a	Метастаза у једном ипсилатералном лимфном чвору $> 3\text{cm}$ - 6cm у највећој димензији без екстранодалног ширења
N2b	Метастаза у мултиплим ипсилатералним лимфним чворовима $\leq 6\text{cm}$ у највећој димензији без екстранодалног ширења
N2c	Метастаза у билатералним или контралатералним лимфним чворовима $\leq 6\text{cm}$ у највећој димензији без екстранодалног ширења
N3a	Метастазе у лимфном чвору $> 6\text{cm}$ у највећој димензији без екстранодалног ширења
N3b	Метастазе у једном или више лимфних чворова са клиничким екстранодалним ширењем

Табела 5. *M* калсификација удаљених метастаза планоцелуларног карцинома ларинкса

Удаљене метастазе	
M0	Нема удаљених метастаза
M1	Удаљене метастазе су присутне

Табела 6. Стадијум болести код планоцелуларног карцинома ларинкса

Стадијум	<i>T</i>	<i>N</i>	<i>M</i>
0	Tis	N0	M0
I	T1	N0	M0
II	T2	N0	M0
III	T3	N0	M0
	T1, T2, T3	N1	M0
Iva	T4a	N0, N1	M0
	T1, T2, T3, T4a	N2	M0
IV b	T4b	Било који N	M0
	Било који T	N3	M0
IVc	Било који T	Било који N	M1

Савремена терапија карцинома ларинкса заснива се на хируршком лечењу, примени радиотерапијских процедура, хемиотерапији или њиховој међусобној комбинацији. Одлука о модалитету лечења је јединствена за сваког пацијента и доноси се мултидисциплинарним приступом на Онколошком конзилијуму. Осим клиничкопатолошких одлика тумора, на терапијску одлуку утиче и опште стање болесника, коморбидитети, социоекономски параметри, мотивисаност пацијента за лечење. Циљ специфичне терапије је наравно уклањање тумора и спречавање његове прогресије, али подразумева и:

- функционалност преосталог дела ларинкса, поштујући принципе онколошке радикалности;

- остављање могућности за постоперативну вокалну рехабилитацију;
- очување квалитета живота.

Исход онколошког лечења зависи од више фактора, али првенствено од клиничких карактеристика самог тумора, односно његове величине и локализације, хистолошког гадуса, присуства или одсуства лимфоваскуларне и перинеуралне инвазије туморским ткивом, регионалне или удаљене проширености болести. Резултат лечења доминантно зависи од стадијума болести у време дијагностиковања болести. Време преживљавања ће се у значајној мери скратити уколико болест узнапредује (локални или регионални рецидив, односно појава удаљених метастаза).

У последње време, а пре свега развојем молекуларне биологије, откривени су многи молекуларни механизми у онкогенези малигних тумора. Експресија одређених туморских маркера доводи се у везу са настанком и биолошким понашањем карцинома ларинкса. Утврђивање прогностичких вредности неких туморских маркера били би од велике помоћу у одабиру модалитета лечења, који је круцијалан за прогнозу болести. Ниједна експериментална студија, до сада, није дефинисала поуздани прогностички фактори, који би могао предвидети еволуцију малигне болести. У свету је испитивано више потенцијалних предиктивних биомаркера, у које се убрајају поједини пролиферативни маркери (Ki-67, EGFR, TGF, Ciklin A) (48,49), тумор супресор гени, међу њима најзначајнији *p53* ген (50), различити протеини и ензими.

Матрикс металопроотеиназе (ММП) су фамилија од 23 ендопептидазе, структурно веома сличне, а које разграђују компоненте екстраћелијског матрикса и на тај начин играју значајну улогу у процесу туморског напредовања и настанку метастаза (51). Оне се могу активирати различитим агенсима, другим протеазама или појединим члановима ММП фамилије. Експресија и активација ММП се уочава скоро код свих тумора.

Матрикс металопроотеиназа 2 (ММП-2) и матрикс металопроотеиназа 9 (ММП-9) су желатиназе које су повезане са малигним фенотипом туморских ћелија, јер имају способност да разарају колаген типа IV, који је врло важна компонента базалне мембране (52). Ово је кључни моменат, који је неопходан, за инвазију и метастазу туморских ћелија. Један број публикованих радова је показао да ММП могу играти важну улогу у развоју и ширењу планоцелуларног карцинома главе и врата (52,53).

У последње време, у већем броју радова запажена је појачана експресија ММП-2 и ММП-9 код малигних тумора ларинкса. Међутим, резултати студија које се баве испитивањем корелације нивоа експресије ММП-2 и ММП-9 код карцинома ларинкса са клиничкопатолошким карактеристикама и прогнозом болести нису конзистентни. Стога, сва наредна истраживања треба усмерити ка тачном дефинисању значајности експресије ММП-2 и ММП-9 у односу на клиничкопатолошке параметре тумора, посматрајући сваки субрегион ларинкса засебно, не би ли се испитиване ММП дефинитивно издвојиле као поуздани биомаркер.

2. ЦИЉЕВИ И ХИПОТЕЗЕ СТУДИЈЕ

2.1. ЦИЉЕВИ СТУДИЈЕ

1. Одредити ниво експресије ММП-2 и ММП-9 у ткиву планоцелуларног карцинома гркљана и хроничног ларингитиса.
2. Утврдити повезаност експресије ММП-2 и ММП-9 са следећим клиничкопатолошким карактеристикама тумора: примарна локализација, *TNM* стадијум, хистолошки градус, перинеурална и лимфоваскуларна инвазија туморским ћелијама, појава локалног или регионалног рецидива болести.
3. Утврдити да ли ниво експресије ММП-2 и ММП-9 показује повезаност са стопом петогодишњег преживљавања болести.
4. Утврдити повезаност нивоа експресије ММП-2 и ММП-9 са густином лимфоцитне и еозинофилне инфилтрације у субепителијалном слоју узорака ткива карцинома ларинкса.

2.2. ХИПОТЕЗЕ СТУДИЈЕ

1. Ниво експресије ММП-2 и ММП-9 већи је у ткиву планоцелуларног карцинома ларинкса у односу на ткиво хроничног ларингитиса.
2. Експресија ММП-2 и ММП-9 је статистички значајно повећана:
 - а) код супраглотичних у односу на глотичне планоцелуларне карциноме;
 - б) код узнапредовалих стадијума болести (стадијуми III и IV);
 - ц) код нижег степена диферентованости туморског ткива;
 - д) код појаве локалног и регионалног рецидива болести;
 - е) у случајевима удаљених метастаза;
 - ф) код присуства перинеуралне инвазије;
 - г) код присуства лимфоваскуларне инвазије.
3. Стопа петогодишњег преживљавања је у директној вези са степеном експресије ММП-2 и ММП-9.
4. Постоји позитивна корелација између нивоа експресије ММП-2 и ММП-9 и густине лимфоцитне и еозинофилне инфилтрације у субепителијалном слоју ткива карцинома ларинкса.

3. МАТЕРИЈАЛ И МЕТОД

3.1. ДИЗАЈН СТУДИЈЕ

Студија је дизајнирана као проспективна, клиничко опсервациона.

3.2. ПОПУЛАЦИЈА

У истраживање је било укључено укупно 140 болесника, од тога 70 са патохистолошки верификованим планоцелуларним карциномом ларинкса и 70 са патохистолошки верификованим хроничним ларингитисом. Испитаници са карциномом ларинкса су разврстани по групама у односу на: локализацију тумора у ларинксу (супраглотична, глотична); *TNM* стадијума болести (*T1/T2*, *T3/T4*, *N0* односно *N+*, *M0* односно *M+*); стадијум болести (I, II, III и IV); степен диферентности ћелија тумора (добро, умерено, слабо); начина ћелијског раста (вегетантни, инфилтративни, мешовити); развој локорегионалног рецидива (са или без рецидива болести); присуства перинеуралне инвазије (са или без перинеуралне инвазије); присуства лимфоваскуларне инвазије (са или без лимфоваскуларне инвазије); петогодишње преживљавање (са или без петогодишњег преживљавања). Пацијенти са карциномом ларинкса су дијагностиковани, лечени и праћени у периоду од минимум 5 година, између 2010. и 2017. у Клиници за оториноларингологију, а на основу одобрења Етичког одбора Војномедицинске академије у Београду. Сви испитаници укључени у истраживање потписали су Образац информисаног пристанка. Контролну групу су чинили пацијенти код којих је, у истом периоду, дијагностикован и лечен хронични ларингитис. Патохистолошка верификација тумора ларинкса вршена је у Институту за патологију и судску медицину Војномедицинске академије у Београду. Имунохистохемијска обрада препарата је спроведена у Институту за патологију Медицинског факултета у Београду.

3.3. УЗОРКОВАЊЕ И АНАЛИЗА

Критеријум за укључивање у студију су патохистолошки верификовани планоцелуларни карциноми ларинкса или патохистолошки верификовани хронични ларингитиси. Сви испитаници укључени у студију су интервјуисани о професији, туморима у породици, својим навикама и здравственом стању. Критеријуми за искључење из студије су била друга малигна обољења, претходно спроведена зрачна или полихемиотерапија или већ раније извршено хируршко уклањање тумора. Затим, системске болести са захватањем ларинкса, бенигни псеудотумори ларинкса (едеми гласница, полипи, грануломи и др.).

Део туморског ткива, који је добијен током ларингомикроскопије или оперативног захвата, фиксиран је 24 часа у 4% пуферованом раствору формалина. Потом је испиран водом и дехидриран у алкохолима растуће концентрације (70% до апсолутног), а затим

липофилизован у ксилолу и калупљен у парафину. Парафински блокови су сечени микротомом на дебљину узорака 3-5 микрометара. Пресеци су бојени хематоксилин-еозином. Хистопатолошка дијагноза је постављена на основу *H&E* препарата.

Патохистолошком анализом препарата добијени су подаци о врсти и димензији тумора, хистолошком степену диферентности, присуству/одсуству перинеуралне, односно лимфоваскуларне инвазије, ширењу тумора ван ларинкса и у регионалне лимфне чворове. Одређивање *TNM* статуса урађено је по препоруци VIII едиције *TNM* класификације малигнух тумора усвојене од UICC (*Union for International Cancer Control*).

Имунохистохемијско бојење обухвата низ технолошких процедура: депарафинизацију, након сечења на пресеке 3-4 микрометара из парафинских калупа и сушења (16-56 степени) следе фазе потапања у ксилолу, алкохолу и дестилованој води. Затим се врши протеолитичка дигестија (демаскирање антигена). Депарафинисани пресеци се у кивети са 250 ml раствора цитратног пуфера (10 mmol/L) кувају у микроталасној пећници на максималној температури два пута, по пет минута; потом се хладе у цитратном пуферу на собној температури 30 минута. Након тога се испирају дестилованом водом два пута по тридесет секунди. Следећа фаза подразумева блокирање ендogene пероксидазе: ткивни пресеци стоје у 3% водоник пероксиду пет минута; потом се исперу дестилованом водом и прелију фосфатним пуфером три пута по два минута. Имунохистохемијска бојења су примењена са *anti-human MMP-2* и *anti-human MMP-9* антителима.

Анализа имунохистохемијске реакције је вршена светлосним микроскопом. Очитавање нивоа експресије ММП- 2 и ММП- 9 је обављено, семиквантитативном методом, од стране искусних патолога, а на основу интезитета бојења цитоплазме ћелија епитела и строме. Налаз је био негативан уколико нема ММП имунореактивности. Ниво интезитета експресије се одредио на следећи начин: слаб (1) када је нађено 0-10% обојених ћелија, умерен (2) 10 - 50% обојених ћелија, јак (3) више од 50% обојених ћелија. Очитавање нивоа еозинofilне и лимфоцитне инфилтрације извршено је на исти начина, а након фотографисања препарата на дигиталном микроскопу у 10 различитих видних поља.

3.4. СНАГА СТУДИЈЕ И ВЕЛИЧИНА УЗОРКА

Основна подела болесника у овој студији (2 групе), направљена је у односу на почетну дијагнозу (планоцелуларни карцином гркљана, хронични ларингитис). Једна од основних хипотеза је присуство повећане експресије ММП-2 и ММП-9 у ткиву особа захваћених малигнуим процесом.

Снага студије треба да буде минимално 80%, а вероватноћа грешке првог типа ($\alpha = 0,05$). На основу података из доступне литературе (*Peschos* и сар. *Histol Histopathol* 2006; 21: 603-8), може се очекивати разлика у нивоу експресије ММП-2 и ММП- 9 (између 2 групе) од око 20%. Применом *z*- теста (разлика пропорција независних група) добијено је да је минимални број испитаника у свакој групи 70.

Анализа је извршена уз помоћ комерцијално доступног програма GPower 3.1.

3.5. СТАТИСТИЧКА ОБРАДА ПОДАТАКА

Комплетна статистичка анализа података извршена је помоћу комерцијалног статистичког софтвера SPSS Statistics 18. Већина варијабли, представљена је у виду фреквенција појединих обележја (категорија), а статистичка значајност разлика је проверавана применом *Hi* квадрат теста. У случају континуираних варијабли, подаци су приказани као средња вредност \pm стандардна девијација (*SD*). Провера нормалности дистрибуције података, извршена је применом Колмогоров- Смирнов теста. У зависности од резултата овог теста, статистичка значајност између две групе, процењивана је применом t- теста или путем *Mann-Whitney* теста. У случају када се пореде више од две групе, користио се *ANOVA* у једном правцу или алтернативно *Kruskal-Wallis* тест. Јачина повезаности (корелације) појединих параметара, испитивала се применом *Spearman's* и *Pearson's* корелационе анализе. Поређење дужине преживљавања болесника различитих група (подгрупа) извршена је помоћу *Kaplan –Maier* анализе.

Статистички значајна разлика процењивана је на минималном нивоу $p < 0,05$.

4. РЕЗУЛТАТИ

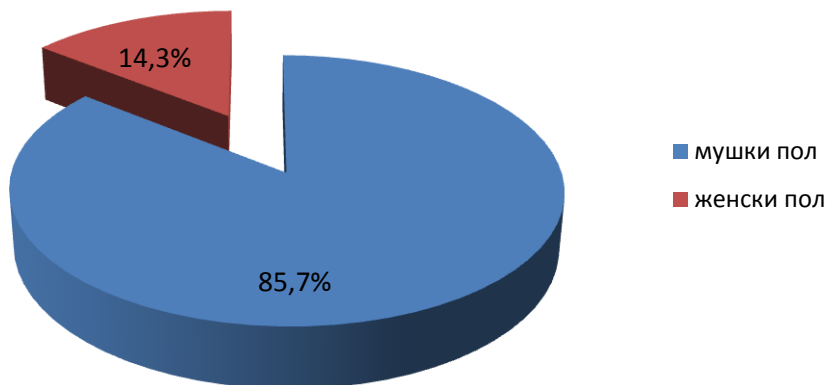
4.1. Демографске карактеристике испитаника

У истраживање је било укључено 140 испитаника, 70 са патохистолошки верификованим карциномом ларинкса и контролна група, коју су чинили 70 патохистолошки верификованих хроничних ларингитиса.

4.1.1. Дистрибуција пацијената са карциномом ларинкса према полу и старосној доби

Групу пацијената са карциномом ларинкса чинили су углавном мушкарци, њих 60 (85,7%), док је жена било знатно мање 10 (14,3%) (Графикон 1).

Графикон 1. Дистрибуција пацијената према полу



Просечна старост пацијената је била 59,41 ($\pm 7,1$), са распоном од 40 до 79 година. Није нађена статистички значајна разлика, поредећи пол и старост пацијената (Табела 7).

Табела 7. Дистрибуција пацијената према старосној доби

Пол	N	Mean	SD	Minimum	Maximum
М	60	59,42	7,16	40	79
Ж	10	59,40	7,21	51	75
Укупно	70	59,41	7,12	40	79

4.1.2. Дистрибуција пацијената са карциномом ларинкса према старосној доби у односу на субрегион

Карцином глотичне регије био је заступљен код 45 (64,3%) пацијената, просечне старости 59,7 ($\pm 6,8$) година, а супраглотичног региона код 25 (35,7%) пацијента, просечне старости 58,8% ($\pm 7,7$) (Табела 8).

Поређећи старосну доб пацијената и примарну локализацију тумора, није нађена статистички значајна разлика.

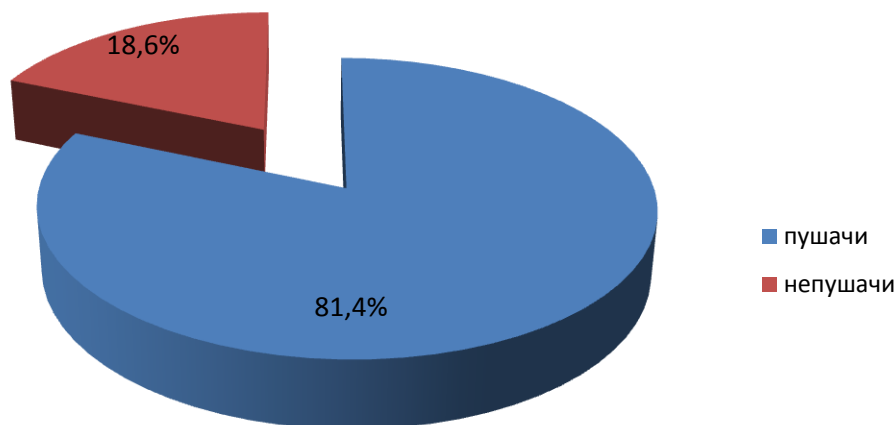
Табела 8. Дистрибуција пацијената према старости у односу на субрегион ларинкса

Регион ларинкса	N	Mean	SD	Minimum	Maximum
Глотис	45	59,73	6,82	42	79
Супраглотис	25	58,84	7,73	40	72
Укупно	70	59,41	7,12	40	79

4.1.3. Дистрибуција пацијената са карциномом ларинкса према штетним навикама у односу на субрегион

4.1.3.1. Дистрибуција пацијената са карциномом ларинкса према пушачким навикама у односу на субрегион

Од укупног броја пацијената, 57 (81,4%) су били пушачи цигарета, док је непушача било 13 (18,6%) (Графикон 2).

Графикон 2. Дистрибуција пацијената према пушачким навикама

Карцином глотичног региона је имало 33 (73,3%) пушача, а супраглотични тумор 24 (96%). Показана је статистички значајна разлика између злоупотребе дувана и региона ларинкса тј. пушење је удружено у високом проценту са појавом супраглотичних карцинома (Табела 9).

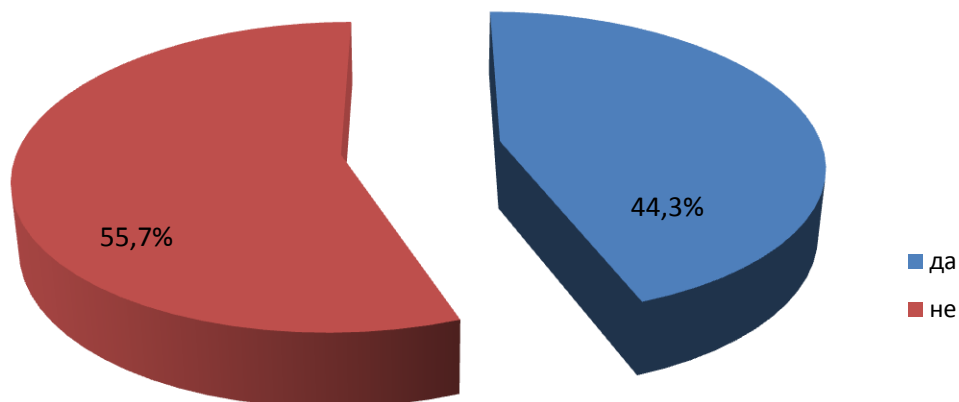
Табела 9. Дистрибуција пацијената према пушачким навикама у односу на субрегион ларинкса

Пушење	Регион ларинкса	
	Глотис (n/%)	Супраглотис (n/%)
Да	33/73,3%	24/96,0%
Не	12/26,7%	1/4,0%
Укупно	45/100%	25/100%

Pearson-ов χ^2 тест: $\chi^2=5,460$, $df=1$, $p<0,05$

4.1.3.2. Дистрибуција пацијената са карциномом ларинкса према конзумацији алкохола у односу на субрегион

Од 70 испитаника 31 (44,3%) је свакодневно конзумирало алкохол, док је њих 39 (55,7%) повремено пило неко алкохолно пиће (Графикон 3).

Графикон 3. Дистрибуција пацијената према конзумацији алкохола

Код 18 (40%) пацијената са глотичним карциномом, добијен је анамнестички податак о редовном конзумирању алкохола и код 13 (52,0%) пацијента са супраглотичним тумором (Табела 10). Није нађена статистичка повезаност између злоупотребе алкохола и субрегиона ларинкса.

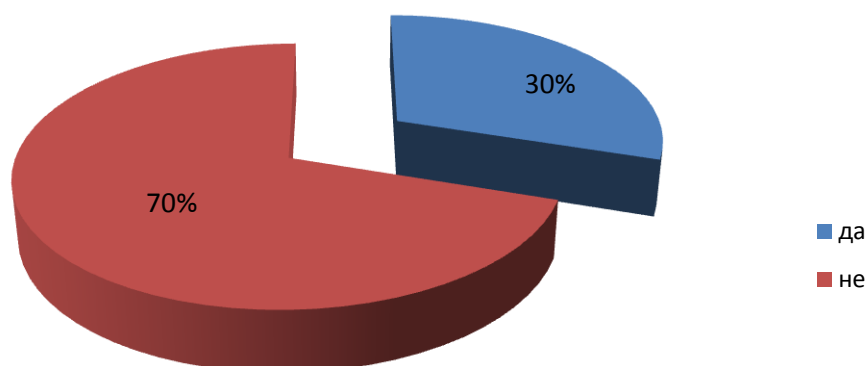
Табела 10. Дистрибуција пацијената према конзумацији алкохола у односу на субрегион ларинкса

Алкохол	Регион ларинкса	
	Глотис (n/%)	Супраглотис (n/%)
Да	18/40,0%	13/52,0%
Не	27/60,0%	12/48,0%
Укупно	45/100%	25/100%

Pearson-ов χ^2 тест: $\chi^2=0,938$, $df=1$, $p>0,05$

4.1.4. Дистрибуција пацијената са карциномом ларинкса према ГЕРБ у односу на субрегион

Током студије 21 (30%) пацијента је имало дијагнозу ГЕРБ, док њих 49 (70%) није (Графикон 4).

Графикон 4. Дистрибуција пацијената према ГЕРБ

Од 21 оболелих, њих 16 (35,6%) је имало тумор глотичне, а 5 (20%) супраглотичне регије. Није утврђена сатистичка значајност између субрегиона ларинкса и ГЕРБ (Табела 11).

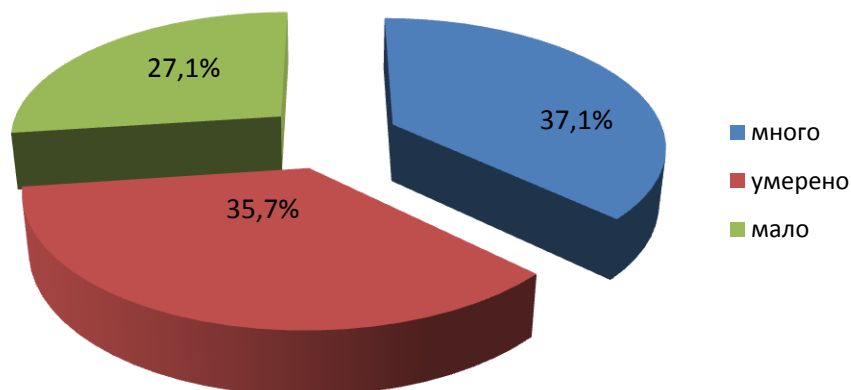
Табела 11. Дистрибуција пацијената према ГЕРБ у односу на субрегион ларинкса

ГЕРБ	Регион ларинкса	
	Глотис (n/%)	Супраглотис (n/%)
Да	16/35,6%	5/20,0%
Не	29/64,4%	20/80,0%
Укупно	45/100%	25/100%

Pearson-ов χ^2 тест: $\chi^2=1,852$, $df=1$, $p>0,05$

4.1.5. Дистрибуција пацијената са карциномом ларинкса према конзумацији фолата у односу на субрегион

Од 70 испитаника, њих 26 (37,1%) је много, 25 (35,7%) умерено, а 19 (27,1%) мало конзумирало храну богату фолатима (Графикон 5).

Графикон 5. Дистрибуција пацијената према конзумацији фолата

У Табели 12, приказана је расподела пацијената оболелих од карцинома ларинкса, на основу степена конзумације фолата и субрегиона ларинкса. Није показана статистички значајна разлика између количине конзумираних фолата и субрегиона ларинкса.

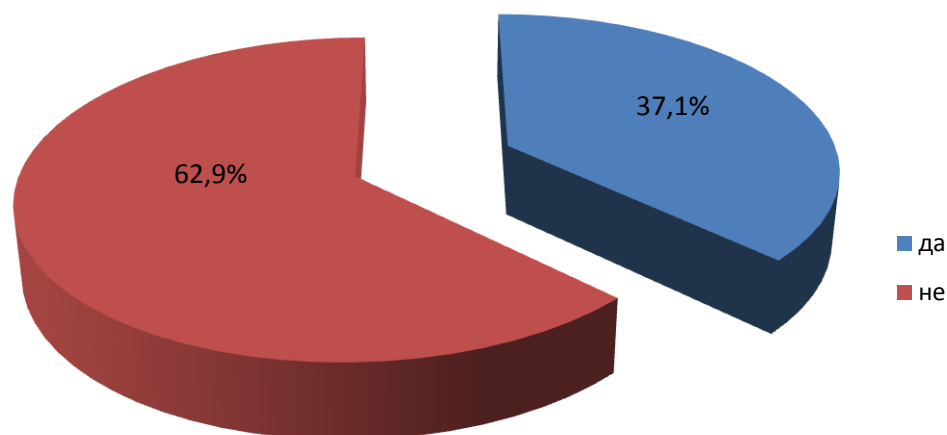
Табела 12. Дистрибуција пацијената према конзумацији фолата у односу на субрегион ларинкса

Фолати	Регион ларинкса	
	Глотис (n/%)	Супраглотис (n/%)
Много	13/28,9%	13/52,0%
Умерено	19/42,2%	6/24,0%
Мало	13/28,9%	6/24,0%
Укупно	45/100%	25/100%

Pearson-ов χ^2 тест: $\chi^2=3,947$, $df=2$, $p>0,05$

4.1.6. Дистрибуција пацијената са карциномом ларинкса према позитивној породичној анамнези у односу на субрегион

Код 26 (37,1%) пацијената добијену су подаци о позитивној породичној анамнези, која се односи на малигне туморе било које локализације. Осталих 44 (62,9%) су негирали да је икада било малигнитета у првом степену сродства (Графикон 6).

Графикон 6. Дистрибуција пацијената према позитивној породичној анамнези

Од 45 глотисних карцинома, позитивну породичну анамнезу је имало 19 (42,2%) пацијената, а од 25 супраглотисних тумора њих 7 (28%) је имало неког у породици ко је боловао или болује од малигног тумора. Није показана статистички значајна разлика између позитивне породичне анамнезе и субрегиона ларинкса (Табела 13).

Табела 13. Дистрибуција пацијената према позитивној породичној анамнези у односу на субрегион ларинкса

Позитивна породична анамнеза	Регион ларинкса	
	Глотис (n/%)	Супраглотис (n/%)
Да	19/42,2%	7/28,0%
Не	26/57,8%	18/72,0%
Укупно	45/100%	25/100%

Pearson-ов χ^2 тест: $\chi^2=1,392$, $df=1$, $p>0,05$

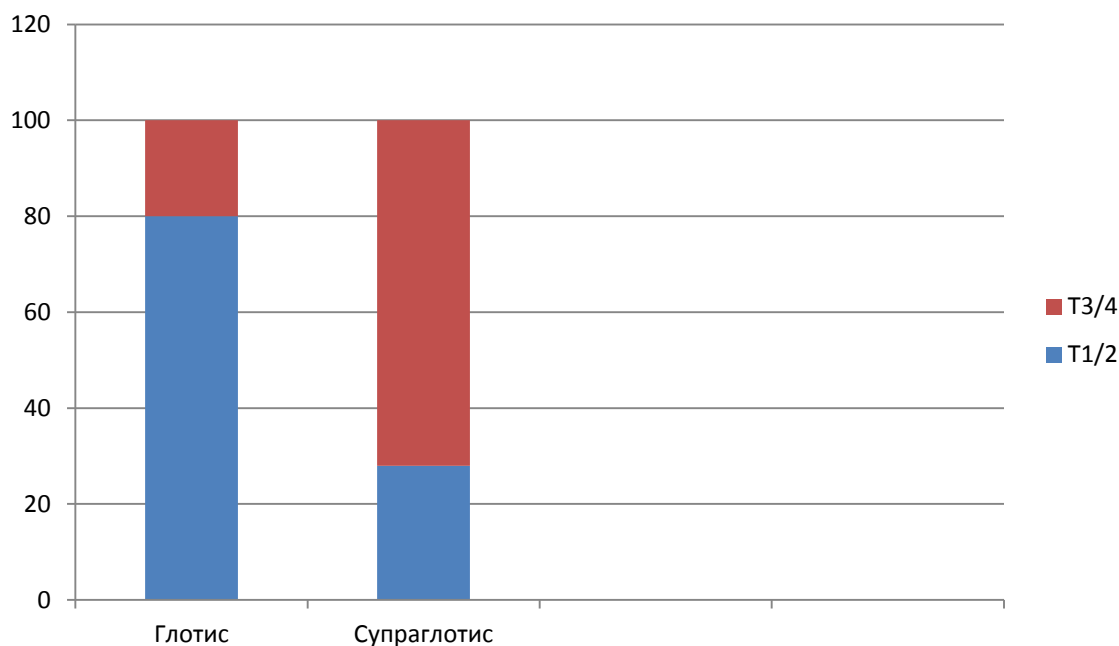
4.2. Дистрибуција пацијената са карциномом ларинкса према клиничкопатолошким карактеристикама тумора у односу на субрегион

4.2.1. Дистрибуција пацијената са карциномом ларинкса према *T* и *N* стадијуму болести у односу на субрегион

4.2.1.1. Дистрибуција пацијената са карциномом ларинкса према *T* стадијуму болести у односу на субрегион

Од 70 пацијената, 36 (80%) глотичних карцинома су били у *T1/T2* стадијуму болести, а 9 (20%) у *T3/T4* стадијуму у моменту дијагностиковања малигне болести. Посматрајући супраглотичне туморе, њих 7 (28%) су били у *T1/T2* стадијуму, а 18 (72%) у *T3/T4* стадијуму болести (Графикон 8).

Графикон 8. Дистрибуција пацијената према *T* стадијуму



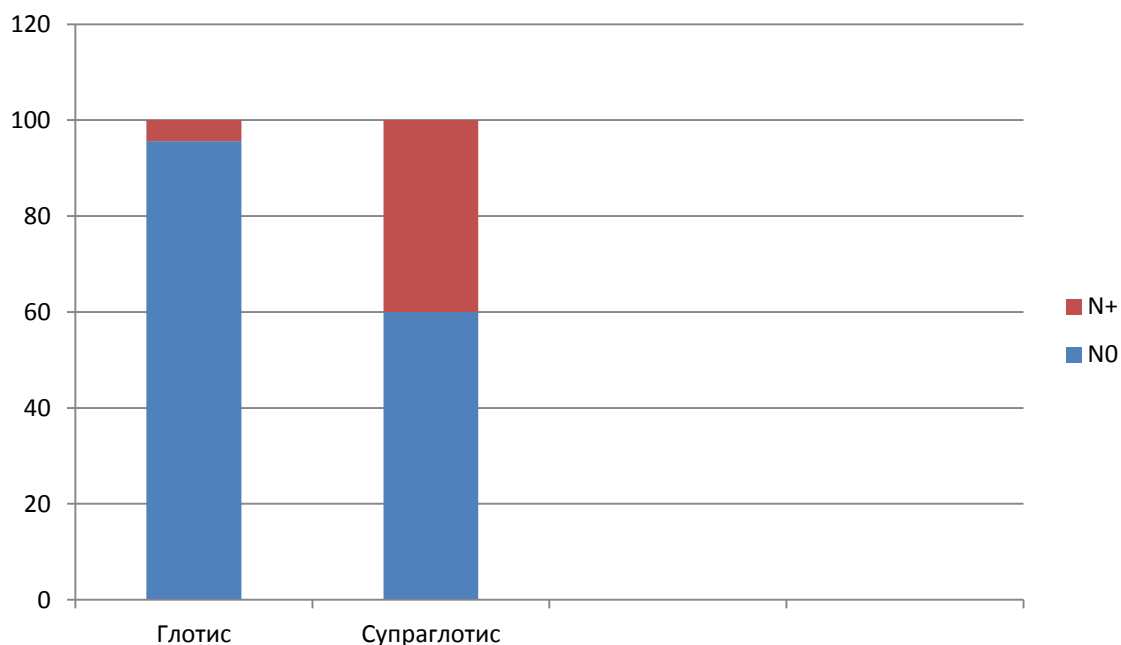
Табела 14. Дистрибуција пацијената према *T* стадијуму болести у односу на субрегион ларинкса

T стадијум	Регион ларинкса (n=70)	
	Глотис (n/%)	Супраглотис (n/%)
<i>T1/T2</i>	36/80,0%	7/28,0%
<i>T3/T4</i>	9/20,0%	18/72,0%
Укупно	45/100%	25/100%

4.2.1.2. Дистрибуција пацијената са карциномом ларинкса према *N* стадијуму болести у односу на субрегион

Разматрајући нодални статус болести, негативне лимфне чворове врата (*N0*) је имало 43 (95,6%) пацијената са глотичним туморима, 15 (60%) са супраглотичним (Табела 15). Позитивних лимфних чворова (*N+*) је било само код 2 (4,4%) пацијента са карциномом у пределу глотиса, а 10 (40%) са тумором супраглотиса (Графикон 9).

Графикон 9. Дистрибуција пацијената према *N* стадијуму



Табела 15. Дистрибуција пацијената према *N* стадијуму болести у односу на субрегион ларинкса

N стадијум	Регион ларинкса (n=70)	
	Глотис (n/%)	Супраглотис (n/%)
<i>N0</i>	43/95,6%	15/60,0%
<i>N+</i>	2/4,4%	10/40,0%
Укупно	45/100%	25/100%

Анализирајући међусобну повезаност T и N стадијума болести са примарном локализацијом тумора, добијена је високо статистички значајна позитивна корелација између супраглотичних тумора са T и N статусом. Са порастом T статуса, расте N статус и обрнуто (Табела 16).

Табела 16. Корелација T и N статуса карцинома ларинкса у односу на субрегион

Параметри	*	n=70		
		Регион ларинкса	T статус	N статус
Регион ларинкса	r	-	0,487***	0,452***
T статус	r	-	-	0,480***

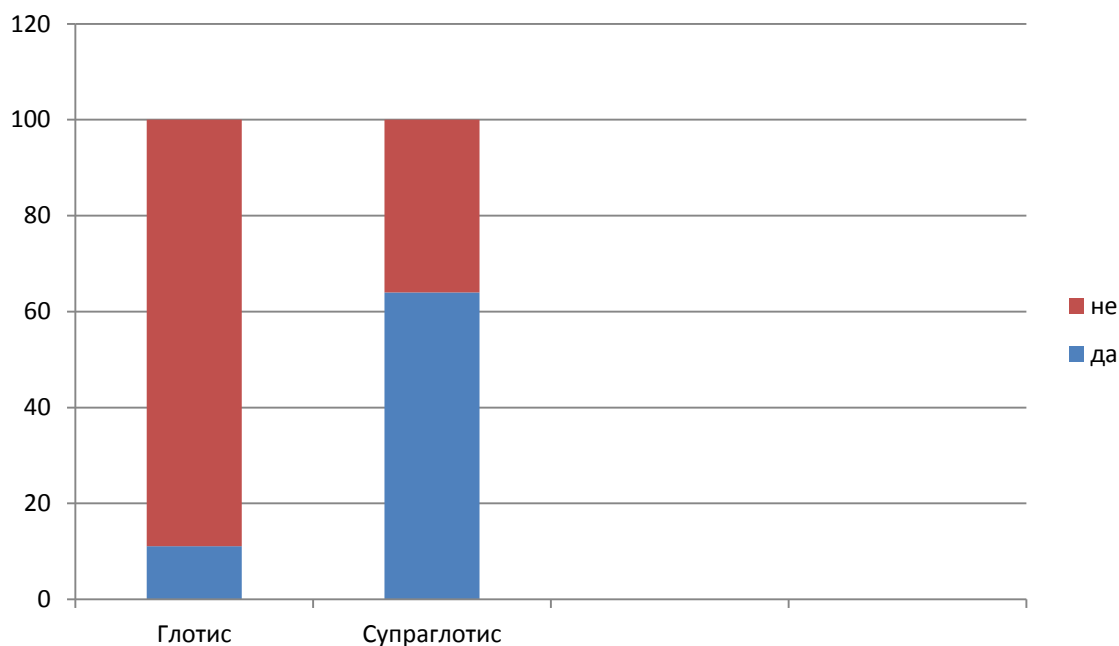
* r (*Spearman*-ов коефицијент корелације), *** (p<0,001)

4.2.2. Дистрибуција пацијената са карциномом ларинкса према M стадијуму болести у односу на субрегион

У нашој испитиваној гурпи од 70 пацијената са планоцелуларним карцином ларинкса није било детектованих удаљених метастаза у моменту дијагностиковања болести.

4.2.3. Дистрибуција пацијената са карциномом ларинкса према дисекцијама врата у односу на субрегион

Од 70 испитаника, код 5 (11,1%) карцинома глотиса и 16 (64%) супраглотиса урађена је нека од врсти дисекција врата (Графикон 10).

Графикон 10. Дистрибуција пацијената према дисекцијама врата

Анализом података, закључено је да постоји високо статистички значајна разлика између дисекције врата и појединих субрегиона ларинкса, односно да се код супраглотичних карцинома чешће раде дисекције врата (Табела 17).

Табела 17. Дистрибуција пацијената према дисекцијама врата у односу на субрегион ларинкса

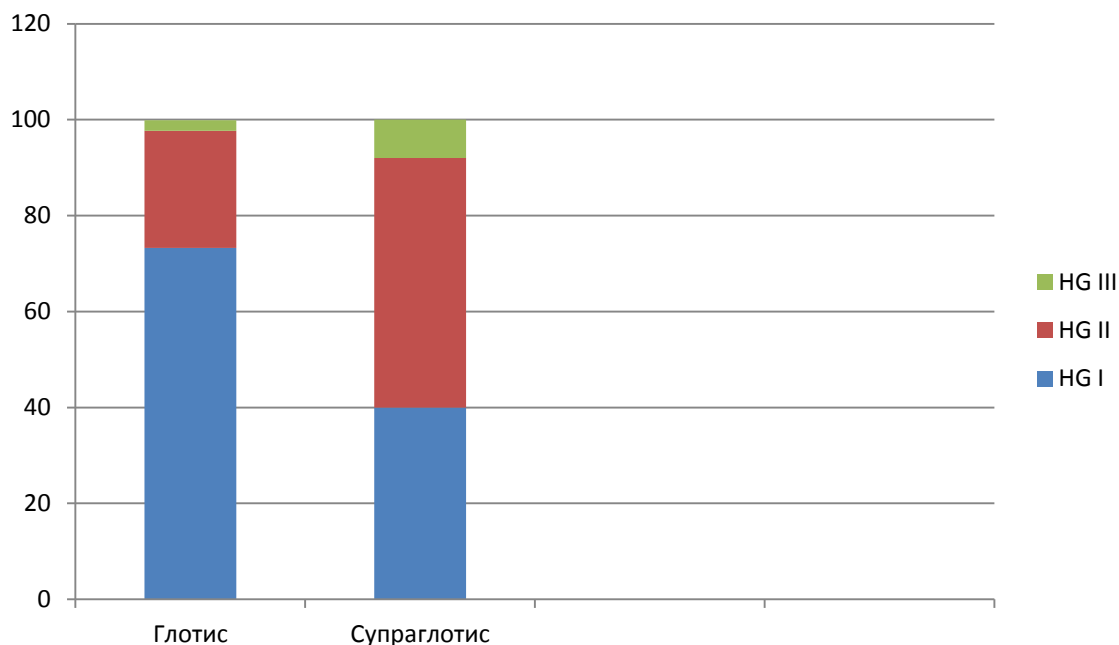
Дисекције врата	Регион ларинкса (n=70)	
	Глотис (n/%)	Супраглотис (n/%)
Да	5/11,1%	16/64,0%
Не	40/88,9%	9/36,0%
Укупно	45/100%	25/100%

Pearson-ов χ^2 тест: $\chi^2=21,407$, $df=1$, $p<0,001$

4.2.4. Дистрибуција пацијената са карциномом ларинкса према хистолошком градусу (HG) тумора у односу на субрегион

Глотични карциноми су у 33 (73,3%) случаја били добро диферентовани (HG I), у 11 (24,4%) умерено (HG II), а у 1 (2,2%) случају слабо диферентовани (HG III). Супраглотични карциноми су били доброг степена диференцијације у 10 (40%), средњег у 13 (52%) и слабог у 2 (8%) случаја. (Графикон 11).

Графикон 11. Дистрибуција пацијената према хистолошком градусу



Показана је статистички значајна разлика између хистолошког градуса тумора и субрегиона ларинкса. Глотични карциноми су у значајној мери повезани са вишим степеном диферентованости (Табела 18).

Табела 18. Дистрибуција пацијената према хистолошком градусу у односу на субрегион ларинкса

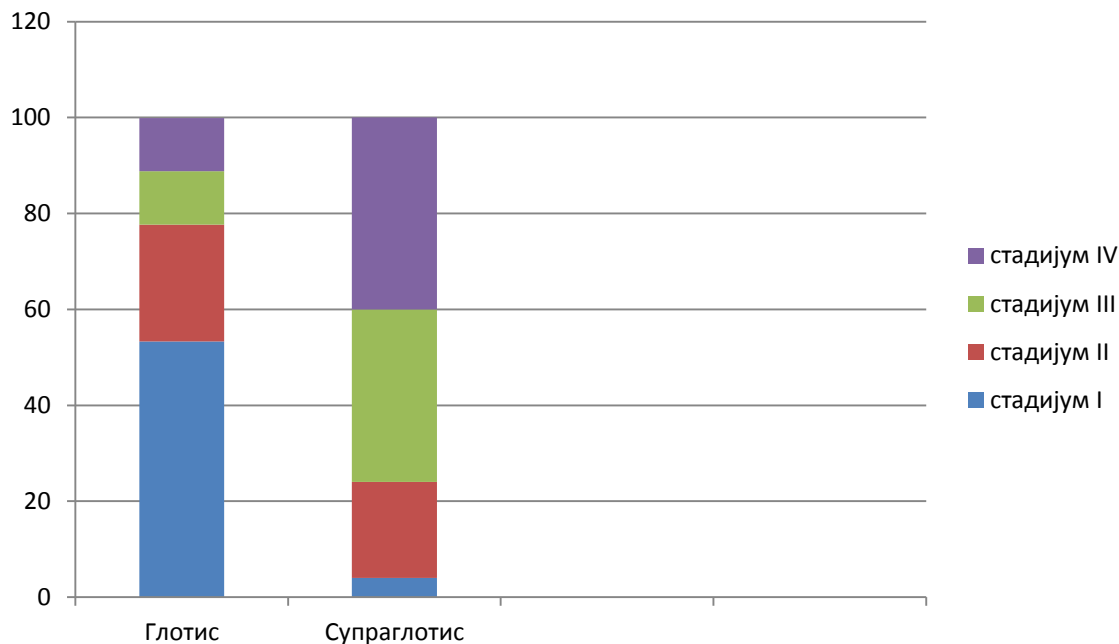
Хистолошки градус (HG)	Регион ларинкса (n=70)	
	Глотис (n/%)	Супраглотис (n/%)
<i>HG I</i>	33/73,3%	10/40,0%
<i>HG II</i>	11/24,4%	13/52,0%
<i>HG III</i>	1/2,2%	2/8,0%
Укупно	45/100%	25/100%

Pearson-ов χ^2 тест: $\chi^2=7,718$, $df=2$, $p<0,05$

4.2.5. Дистрибуција пацијената са карциномом ларинкса према стадијуму болести у односу на субрегион

У I стадијуму болести је дијагностиковано 24 (53%) глотичних карцинома, а само 1 (4%) супраглотични. Тумори регије супраглотиса су углавном били у IV стадијуму (40%). На графикону бр. 12 приказана је расподела пацијената по стадијуму болести.

Графикон 12. Дистрибуција пацијената према стадијуму болести



Регистрована је високо статистички значајна повезаност између стадијума болести и субрегиона ларинкса, односно да рани стадијум болести су имали пацијени са глотичним карциномом и обрнуто (Табела 19).

Табела 19. Дистрибуција пацијената према стадијуму болести у односу на субрегион ларинкса

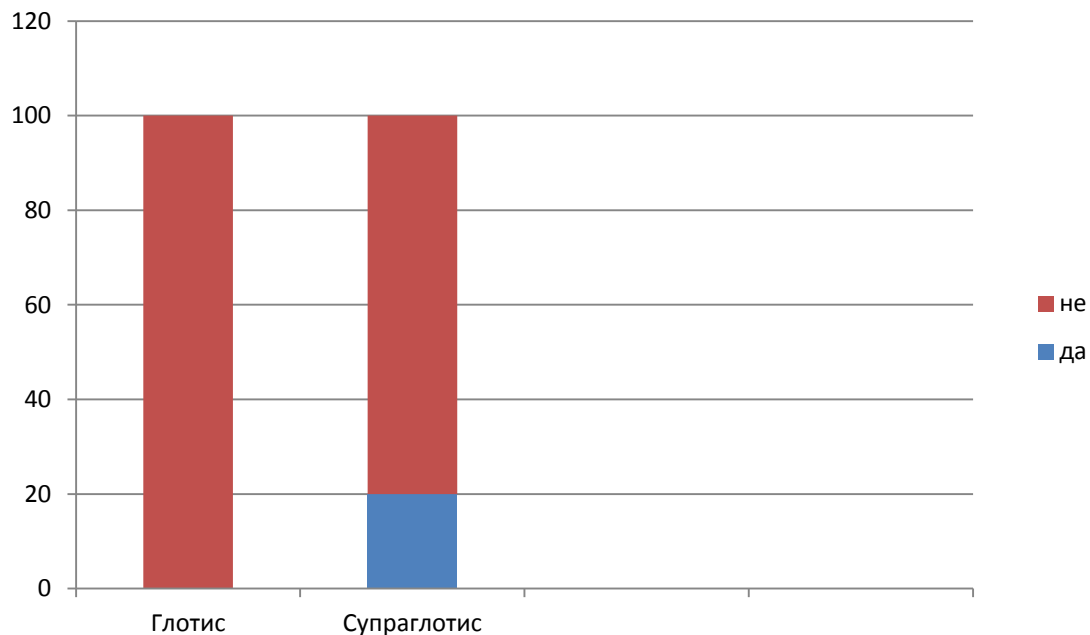
Стадијум болести	Регион ларинкса (n=70)	
	Глотис (n/%)	Супраглотис (n/%)
I	24/53,3%	1/4,0%
II	11/24,4%	5/20,0%
III	5/11,1%	9/36,0%
IV	5/11,1%	10/40,0%
Укупно	45/100%	25/100%

Pearson-ов χ^2 тест: $\chi^2=22,328$, $df=3$, $p<0,001$

4.2.6. Дистрибуција пацијената са карциномом ларинкса према перинеуралној инвазији у односу на субрегион

Патохистолошком анализом карцинома глотичне регије није утврђена перинеурална инвазија туморским ткивом, док је потврђена код 5 (20%) супраглотисних карцинома (Графикон 13).

Графикон 13. Дистрибуција пацијената према перинеуралној инвазији



Анализом резултата утврђена је високо статистички значајна разлика између перинеуралне инвазије тумором и субрегиона ларинкса (Табела 20). Закључује се да је перинеурална инвазија у високом проценту повезана са карциномом супраглотичне локализације.

Табела 20. Дистрибуција пацијената према перинеуралној инвазији у односу на субрегион ларинкса

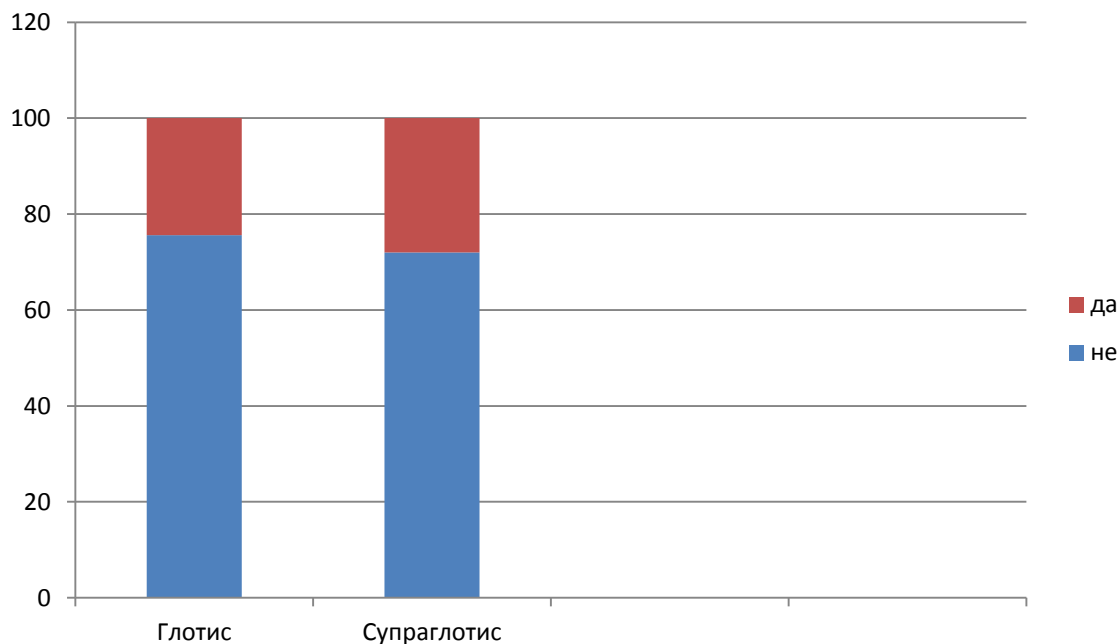
Перинеурална инвазија	Регион ларинкса (n=70)	
	Глотис (n/%)	Супраглотис (n/%)
Да	0/0%	5/20,0%
Не	45/100%	20/80,0%
Укупно	45/100%	25/100%

Pearson-ов χ^2 тест: $\chi^2=9,692$, $df=1$, $p<0,01$

4.2.7. Дистрибуција пацијената са карциномом ларинкса према лимфоваскуларној инвазији у односу на субрегион

Од 70 пацијената, код 34 (75,6%) са глотичним карциномом и 18 (72%) са супраглотичним, патохистолошким анализом није потврђена лимфоваскуларна инвазија туморским ткивом (Графикон 14).

Графикон 14. Дистрибуција пацијената према лимфоваскуларној инвазији



Статистичком анализом података није нађена повезаност између лимфоваскуларне инвазије тумором и субрегиона ларинкса (Табела 21).

Табела 21. Дистрибуција пацијената према лимфоваскуларној инвазији у односу на субрегион ларинкса

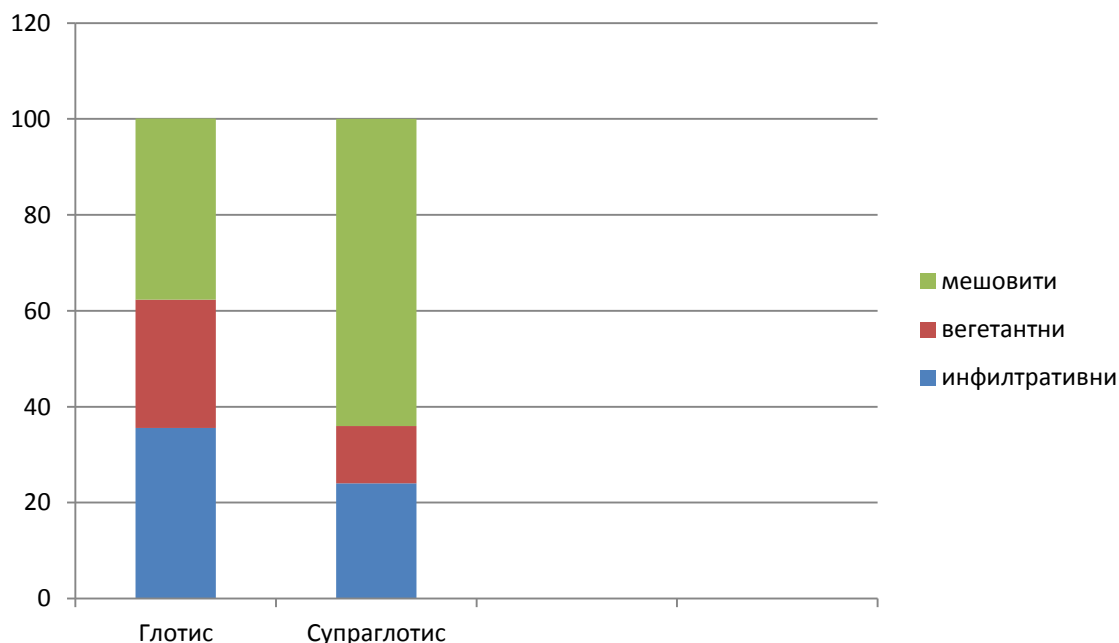
Лимфоваскуларна инвазија	Регион ларинкса (n=70)	
	Глотис (n/%)	Супраглотис (n/%)
Да	11/24,4%	7/28,0%
Не	34/75,6%	18/72,0%
Укупно	45/100%	25/100%

Pearson-ов χ^2 тест: $\chi^2=0,106$, $df=1$, $p>0,05$

4.2.8. Дистрибуција пацијената са карциномом ларинкса према начину туморског раста у односу на субрегион

Посматрајући начин туморског раста, код испитаника са глотичним карциномом њих 16 (35,6%) је имало инфилтративни, док је њих 12 (26,7%), односно 17 (37,8%) имао вегетантни и инфилтративно- вегетантни (мешовити) раст. Код супраглотичних карцинома, инфилтративни раст је имало 6 (24%), вегетантни 3 (12%), а инфилтративно- вегетантни 16 (64%) пацијената (Графикон 15).

Графикон 15. Дистрибуција пацијената према начину туморског раста



Није показана статистички значајна разлика између начина раста тумора и субрегиона ларинкса (Табела 22).

Табела 22. Дистрибуција пацијената према начину туморског раста у односу на субрегион ларинкса

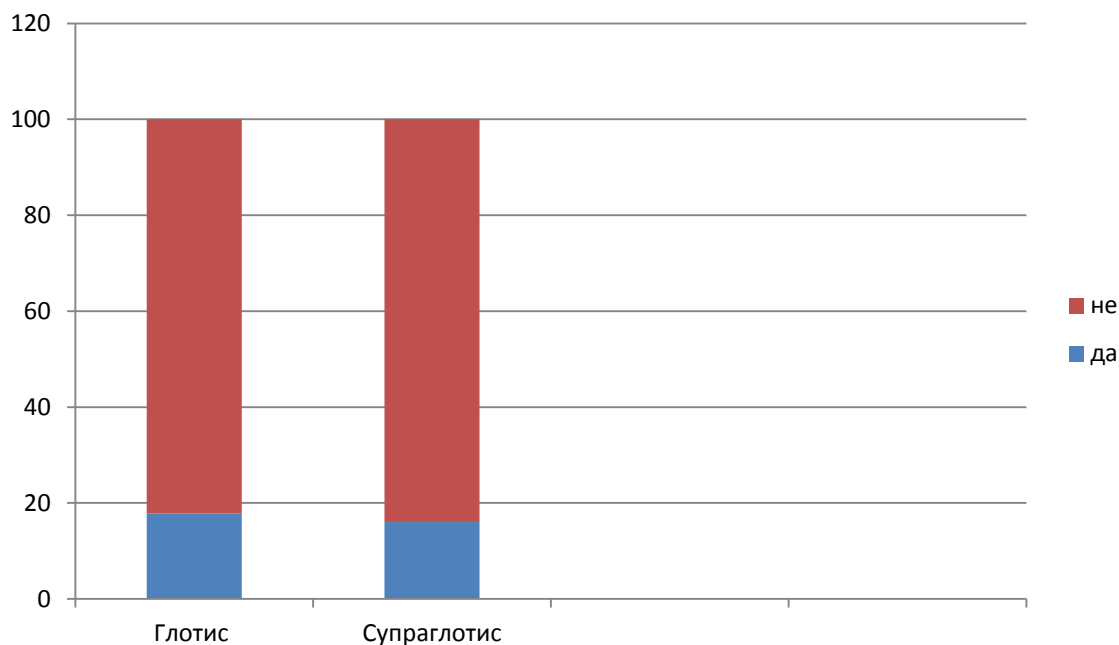
Раст тумора	Регион ларинкса (n=70)	
	Глотис (n/%)	Супраглотис (n/%)
Инфилтративни	16/35,6%	6/24,0%
Вегетантни	12/26,7%	3/12,0%
Мешовити	17/37,8%	16/64%
Укупно	45/100%	25/100%

Pearson-ов χ^2 тест: $\chi^2=4,649$, $df=2$, $p>0,05$

4.2.9. Дистрибуција пацијената са карциномом ларинкса према појави локалног рецидива у односу на субрегион

Локални рецидив болести је имало 8 (17,8%) пацијената са глотичним и 4 (16%) са супраглотичним тумором (Графикон 16).

Графикон 16. Дистрибуција пацијената према појави локалног рецидива



Статистичком анализом прикупљених података није утврђена статистичка разлика између појаве локалног рецидива болести и примарне локализације тумора (Табела 23).

Табела 23. Дистрибуција пацијената према појави локалног рецидива тумора у односу на субрегион ларинкса

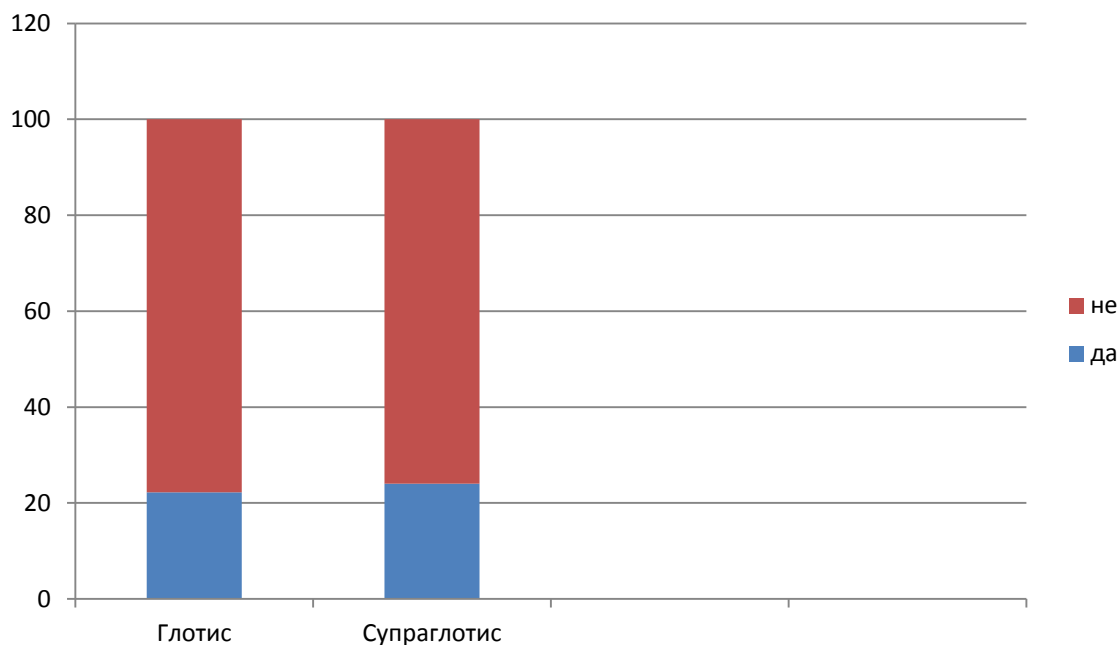
Локални рецидив	Регион ларинкса (n=70)	
	Глотис (n/%)	Супраглотис (n/%)
Да	8/17,8%	4/16,0%
Не	37/82,2%	21/84,0%
Укупно	45/100%	25/100%

Pearson-ов χ^2 тест: $\chi^2=0,036$, $df=1$, $p>0,05$

4.2.10. Дистрибуција пацијената са карциномом ларинкса према развоју регионалног ширења болести у односу на субрегион

Наши испитаници су у високом проценту били без регионалног рецидива болести, 35 (77,8%) глотичних и 19 (76%) супраглотичних карцинома (Графикон 17).

Графикон 17. Дистрибуција пацијената према развоју регионалног ширења болести



Током студијског истраживања није запажена статистички значајна разлика између појаве регионалног ширења болести и субрегиона ларинкса (Табела 24).

Табела 24. Дистрибуција пацијената према развоју регионалног ширења болести у односу на субрегион ларинкса

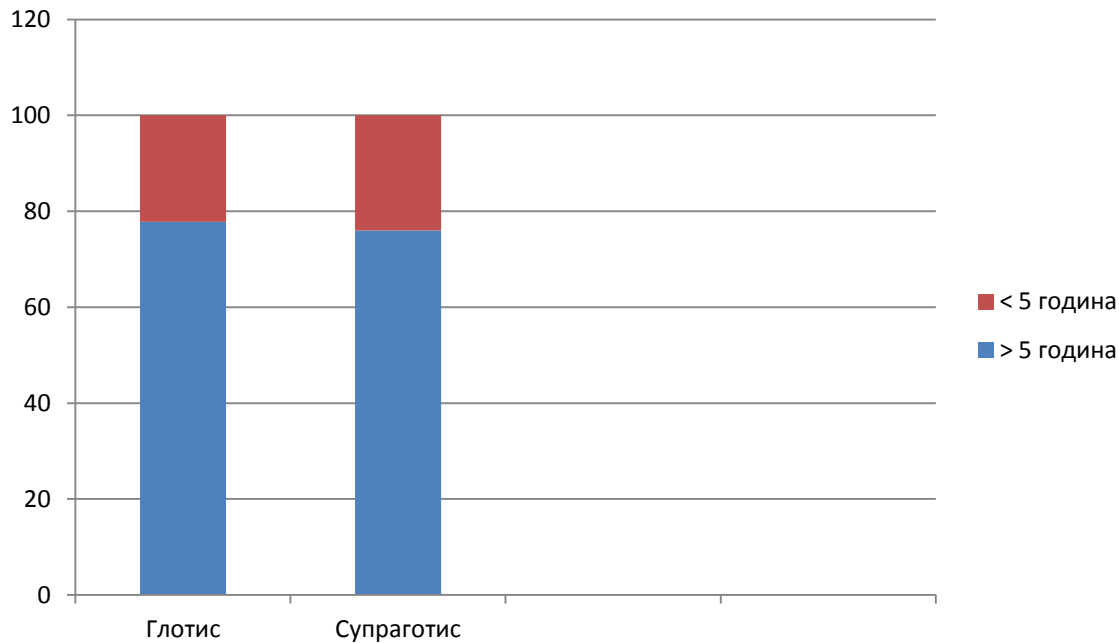
Регионални рецидив	Регион ларинкса (n=70)	
	Глотис (n/%)	Супраглотис (n/%)
Да	10/22,2%	6/24,0%
Не	35/77,8%	19/76,0%
Укупно	45/100%	25/100%

Pearson-ов χ^2 тест: $\chi^2=0,029$, $df=1$, $p>0,05$

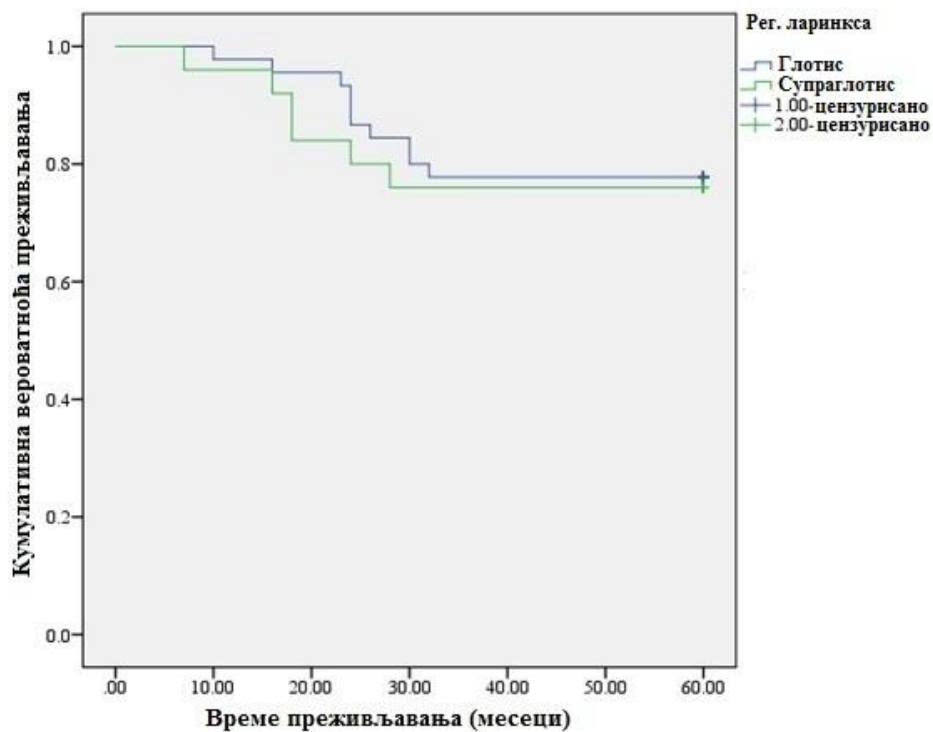
4.2.11. Дистрибуција пацијената са карциномом ларинкса према петогодишњем преживљавању (*overall survival rate- OS*) у односу на субрегион

Петогодишњим праћењем пацијената, преживело је 35 (77,8%) пацијената са глотичним тумором и 19 (76%) са тумором супраглотиса (Графикон 18).

Графикон 18. Дистрибуција пацијената према петогодишњем преживљавању



Методом Карпан-Мејер извршена је упоредна анализа петогодишњег преживљавања пацијената са глотичним и супраглотичним карциномом (Графикон 19).

Графикон 19. Карпан-Мејер- ова крива преживљавања у односу на субрегион ларинкса

Није показана статистички значајна разлика између петогодишњег преживљавања и субрегиона ларинкса (Табела 25).

Табела 25. Дистрибуција пацијената према петогодишњем преживљавању у односу на субрегион ларинкса

Петогодишње преживљавање	Регион ларинкса (n=70)	
	Глотис (n/%)	Супраглотис (n/%)
Да	35/77,8%	19/76,0%
Не	10/22,2%	6/24,0%
Укупно	45/100%	25/100%

Pearson-ов χ^2 тест: $\chi^2=0,029$, $df=1$, $p>0,05$

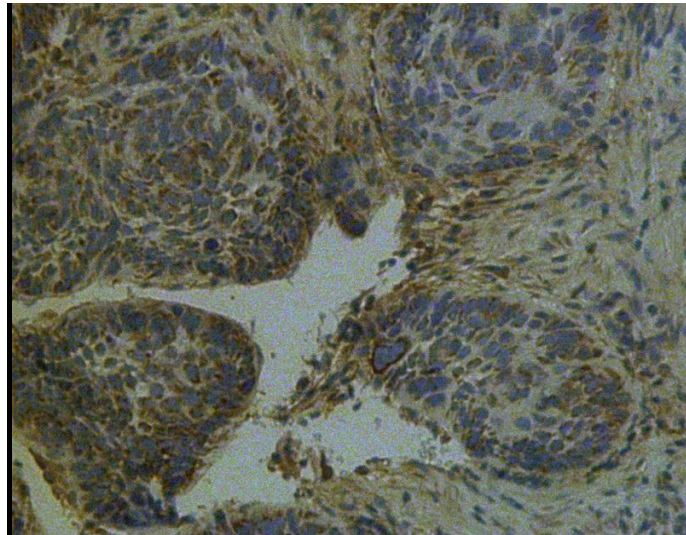
4.3. Поређење пацијената са карциномом ларинкса и хроничним ларингитисом према експресији ММП-2 и ММП-9

Експресија ММП-2 у ћелијама епитела детектована је код 65 (92,2%) пацијената са планоцелуларним карциномом, а у ћелијама строме, позитивна имунореактивност је нађена код 66 (94,3%) случајева (Слика 4а). У контролној групи, код пацијената са дијагнозом хроничног ларингитиса, епителијална експресија ММП-2 је била негативна у 51 (72,9%), а стромална у 55 (78,6%) узорака ткива (Слика 4б).

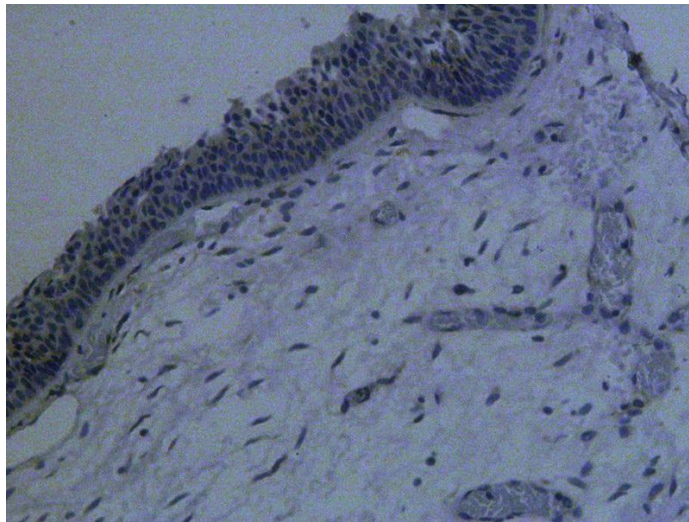
Позитивна ММП-9 епителијална експресија детектована је у свим узорцима карцинома, док је стромална регистрована у 69 (98,6%) (Слика 4ц). Код пацијената са дијагнозом хроничног ларингитиса, ММП-9 експресија у епителу је нађена у 7 (10%) ткивних узорака, а у строми у (14,3%) (Слика 4д).

Статистичком анализом података откривен је значајно виши ниво експресије ММП-2 и ММП-9 у епителу и строми ткивних узорака глотичних и супраглотичних карцинома у поређењу са пацијентима са хроничним ларингитисом. На Графиконима 20а, 20б, 20ц и 20д приказано је поређење ММП експресије у узорцима ткива глотичног карцинома, супраглотичног карцинома и хроничног ларингитиса.

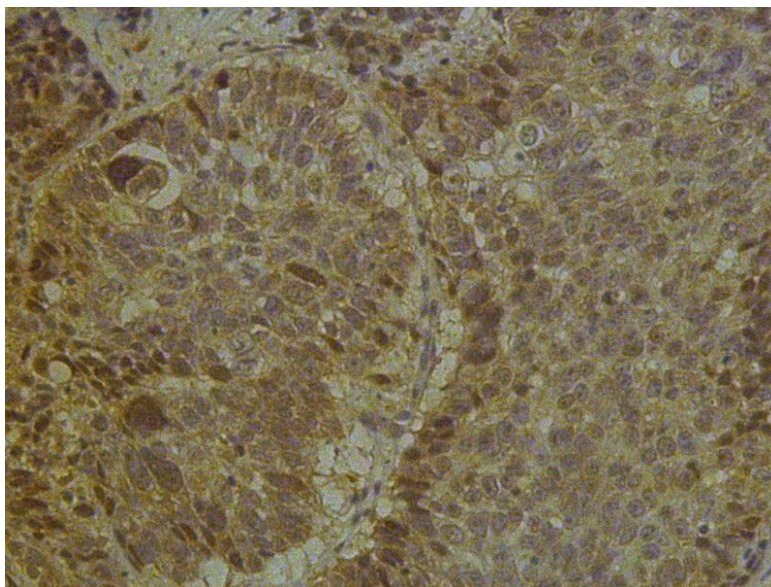
Слика 4а. Имунореактивност ММП-2 у ткиву планоцелуларног карцинома



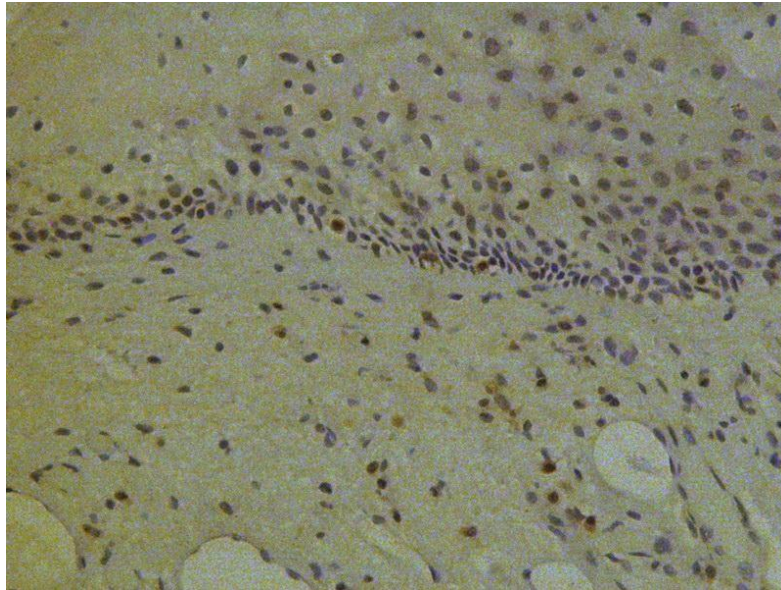
Слика 4б. Имунореактивност ММП-2 у ткиву хроничног ларингитиса



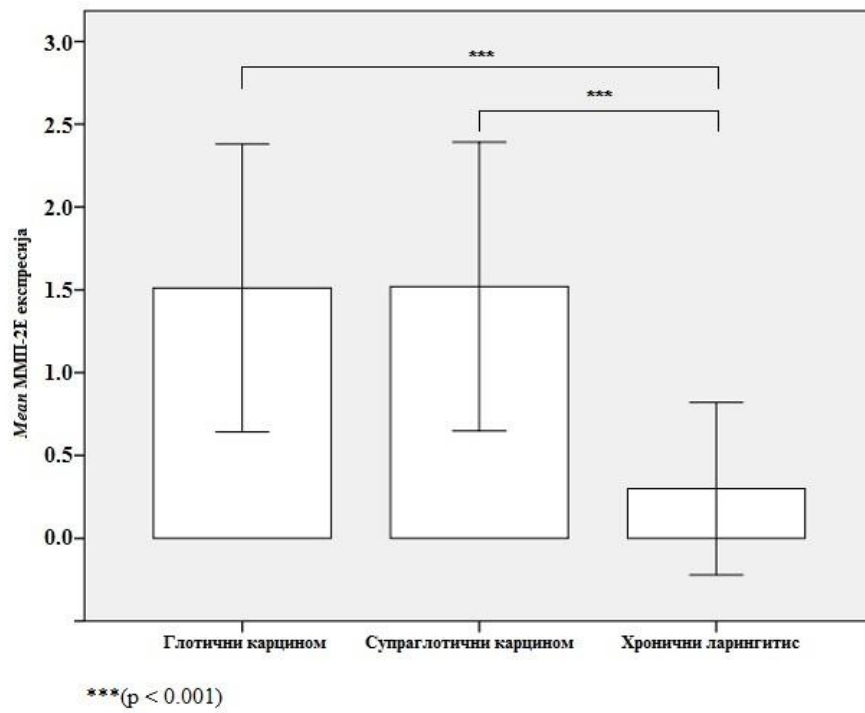
Слика 4ц. Имунореактивност ММП-9 у ткиву планоцелулараног карцинома



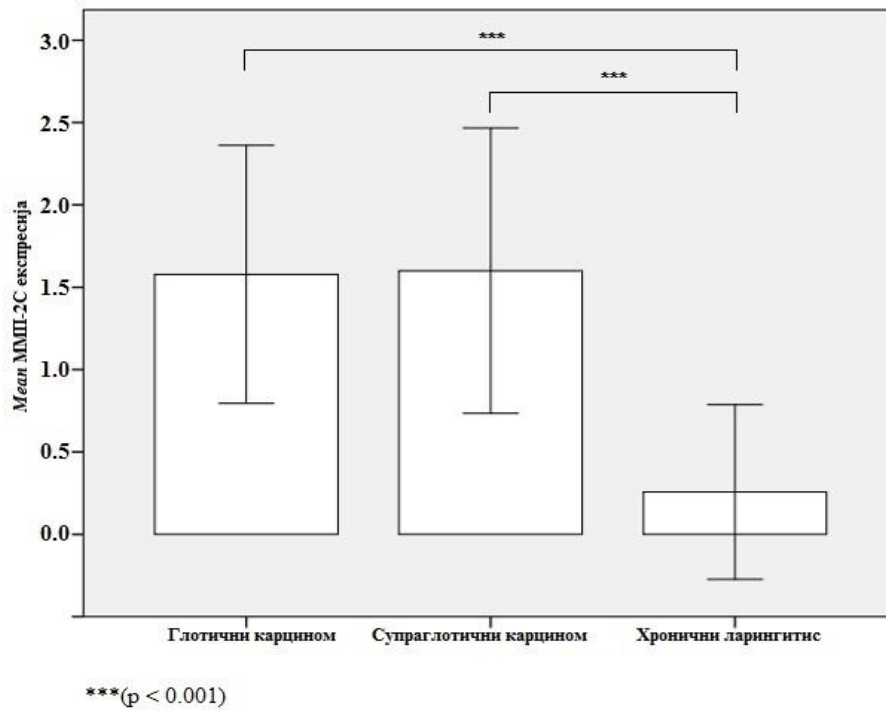
Слика 4д. Имунореактивност ММП-9 у ткиву хроничног ларингитиса



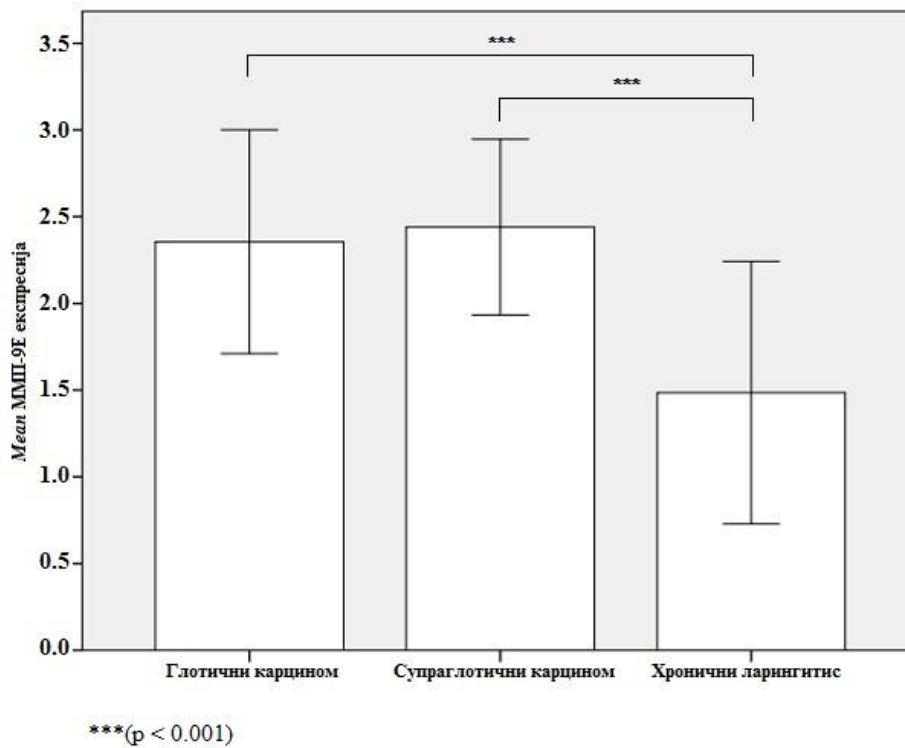
Графикон 20а. Експресија ММП-2 у епителу (ММП-2Е)

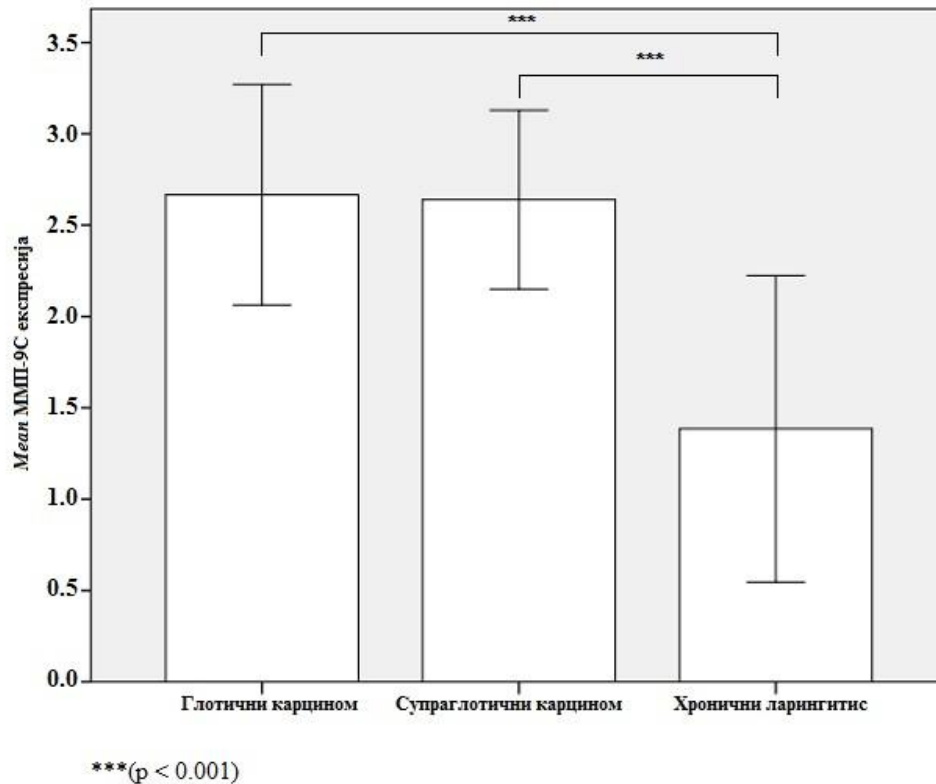


Графикон 20б. Експресија ММП-2 у строми (ММП-2С)



Графикон 20ц. Експресија ММП-9 у епителу (ММП-9Е);



Графикон 20д. Експресија ММП-9 у строми (ММП-9С)

4.4. Поређење пацијената са карциномом ларинкса према експресији ММП-2 и ММП-9 у односу на субрегион

4.4.1. Поређење пацијената са карциномом ларинкса према експресији појединачних ММП-2 и ММП-9 у односу на субрегион

Код пацијената са глотичним карциномом, нашли смо позитивну корелацију између епителијалне и стромалне ММП-2 експресије ($r=0,315$, $p<0,05$). Такође је нађена позитивна корелација између епителијалне имунореактивности ММП-2 и ММП-9 ($r=0,313$, $p<0,05$). Уочена је и позитивна корелација између епителијалне и стромалне ММП-9 експресије ($r=0,435$, $p<0,01$). Код пацијената са супраглотичним карциномом, такође је било статистички значајне корелација између ММП-2 експресије у епителу и строми ($r=0,397$, $p<0,05$), као и између епителијалне ММП-2 и епителијалне ММП-9 ($r=0,517$, $p<0,01$) и стромалне ММП-9 експресије ($r=0,491$, $p<0,05$). На основу података, утврђена је и позитивна корелација између епителијалне и стромалне ММП-9 експресије у супраглотичним карциномима. Сви резултати учињених корелација, приказани су у Табели 26.

Табела 26. Поређење појединачних ММП експресија, у односу на субрегион ларинкса**Табела 26а**

Регион ларинкса (n=45)	Матрикс металопротеиназе (ММП)	r/p	ММП-2Е	ММП-2С	ММП-9Е	ММП-9С
Глотис	ММП-2Е	<i>r</i>	-	0,315	0,313	0,180
		<i>p</i>		0,035	0,037	0,236
	ММП-2С	<i>r</i>			0,259	0,229
		<i>p</i>			0,086	0,131
	ММП-9Е	<i>r</i>			-	0,435
		<i>p</i>				0,003

Табела 266

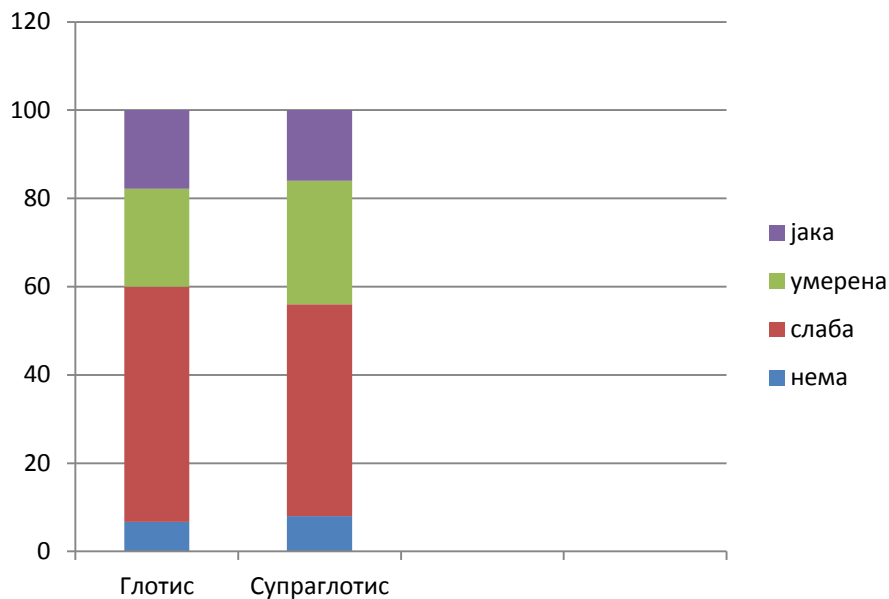
Регион ларинкса (n=25)	Матрикс Металопротеиназе (ММП)	r/p	ММП-2Е	ММП-2С	ММП-9Е	ММП-9С
Супраглотис	ММП-2Е	<i>r</i>	-	0,397	0,517	0,491
		<i>p</i>		0,049	0,008	0,013
	ММП-2С	<i>r</i>		-	0,110	0,347
		<i>p</i>			0,601	0,089
	ММП-9Е	<i>r</i>			-	0,497
		<i>p</i>				0,012

**r* – Spearman-ов коефицијент корелације; *p* – (*probability*)- вероватноћа; ММП-2Е – експресија ММП-2 у епителу; ММП-2С - експресија ММП-2 у строми; ММП-9Е - експресија ММП-9 у епителу; ММП-9С – експресија ММП-9 у строми.

4.4.2. Поређење пацијената са карциномом ларинкса према нивоу експресије појединачних ММП-2 и ММП-9 у односу на субрегион

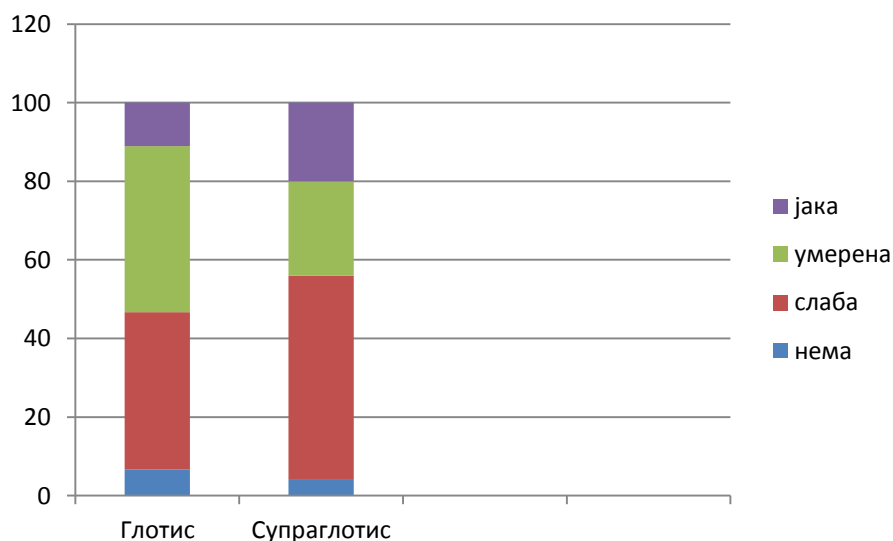
Посматрајући нивое експресија појединих ММП, слаба експресија епителијалне матрикс металопротеиназе-2 (ММП-2Е) је била доминантна у оба субрегиона ларинкса, 24 (53,3%) код глотичних и 12 (33,3%) код супраглотичних тумора. Што се тиче стромалне матрикс металопротеиназе-2 (ММП-2С), доминирао је умерени ниво експресије код 19 (42,2%) глотичних карцинома, док је код супраглотичних тумора превага била ка слабом нивоу експресије, код 13 (52%) пацијената. У оба субрегиона ларинкса, и код тумора глотиса 21 (46,7%) и тумора супраглотиса 14 (56%), најизраженији је био умерени ниво експресије матрикс металопротеиназе-9 у епителним ћелијама (ММП-9Е). Стромална матрикс металопротеиназа-9 (ММП-9С), имала је доминантно јаку имунохистохемијску експресију код обе локализације карцинома, 32 (71,1%) глотичних и 16 (64%) супраглотичних тумора (Графикони 21а, 21б, 21ц и 21д).

Графикон 21а. Поређење пацијената са карциномом ларинкса према нивоу експресије ММП-2Е у односу на субрегион ларинкса



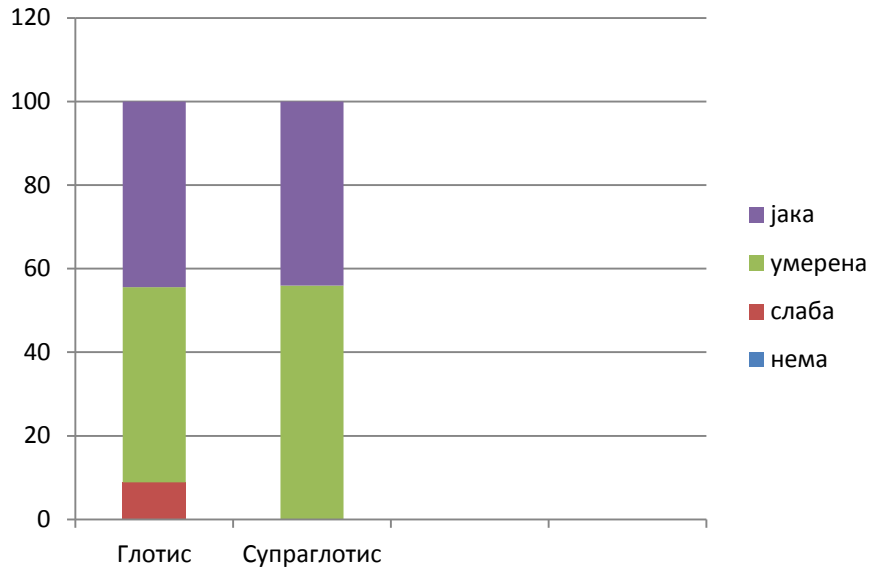
Није нађена статистички значајна повезаност између нивоа експресије ММП-2Е и субрегиона ларинкса (*Pearson*-ов χ^2 тест: $\chi^2=0,379$, $df=3$, $p>0,05$).

Графикон 21б. Поређење пацијената са карциномом ларинкса према нивоу експресије ММП-2С у односу на субрегион ларинкса



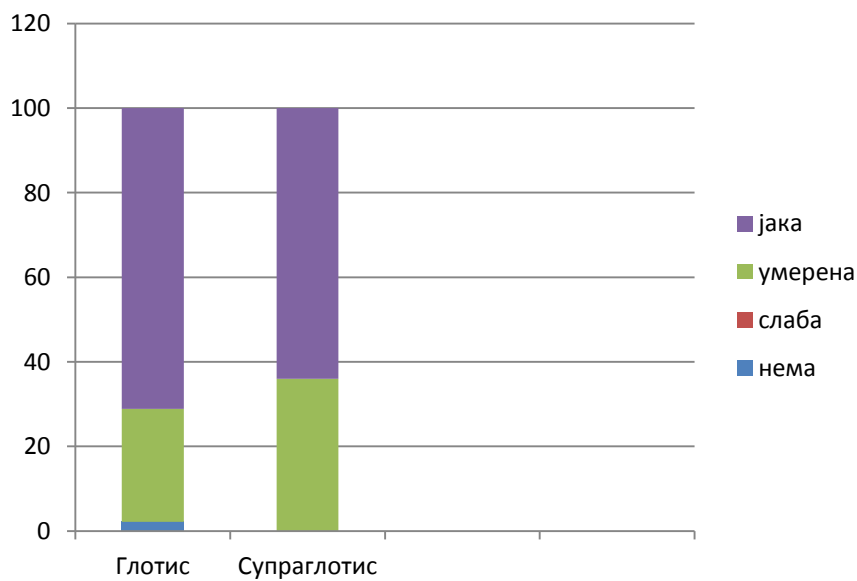
Није нађена статистички значајна повезаност између нивоа експресије ММП-2С и субрегиона ларинкса (*Pearson*-ов χ^2 тест: $\chi^2=3,106$, $df=3$, $p>0,05$).

Графикон 21ц. Поређење пацијената са карциномом ларинкса према нивоу експресије ММП-9Е у односу на субрегион ларинкса



Није нађена статистички значајна повезаност између нивоа експресије ММП-9Е и субрегиона ларинкса (*Pearson*-ов χ^2 тест: $\chi^2=2,503$, $df=2$, $p>0,05$).

Графикон 21д. Поређење пацијената са карциномом ларинкса према нивоу експресије ММП-9С у односу на субрегион ларинкса



Није нађена статистички значајна повезаност између нивоа експресије ММП-9С и субрегиона ларинкса (*Pearson*-ов χ^2 тест: $\chi^2=1,141$, $df=2$, $p>0,05$).

4.5. Поређење пацијената са карциномом ларинкса према густини субепителијалне лимфоцитне и еозинофилне инфилтрације и експресији ММП-2 и ММП-9

Анализирајући међусобну повезаност густине лимфоцитне и еозинофилне инфилтрације са нивоом експресије ММП-2 и ММП-9, добијена је статистички значајна позитивна корелација између густине лимфоцита у ткиву карцинома ларинкса и нивоа експресије епителијалне ММП-2 (ММП-2Е). Такође је нађена, високо статистички значајна повезаност између концентрације лимфоцита и концентрације еозинофила у узорку ткива (Табела 27).

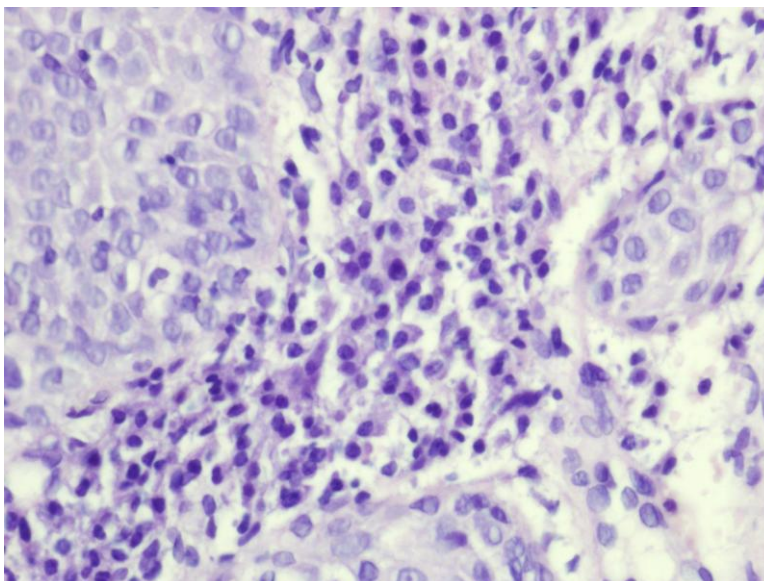
Табела 27. Корелација густине лимфоцитне и еозинофилне инфилтрације карцинома ларинкса у односу на експресију ММП-2 и ММП-9

Параметри (n=70)	*	ММП-2Е	ММП-9Е	ММП-2С	ММП-9С	лимфоцити
лимфоцити	r	0,270*	0,013	0,065	0,219	-
еозинофили	r	0,114	0,105	-0,032	-0,056	0,566**

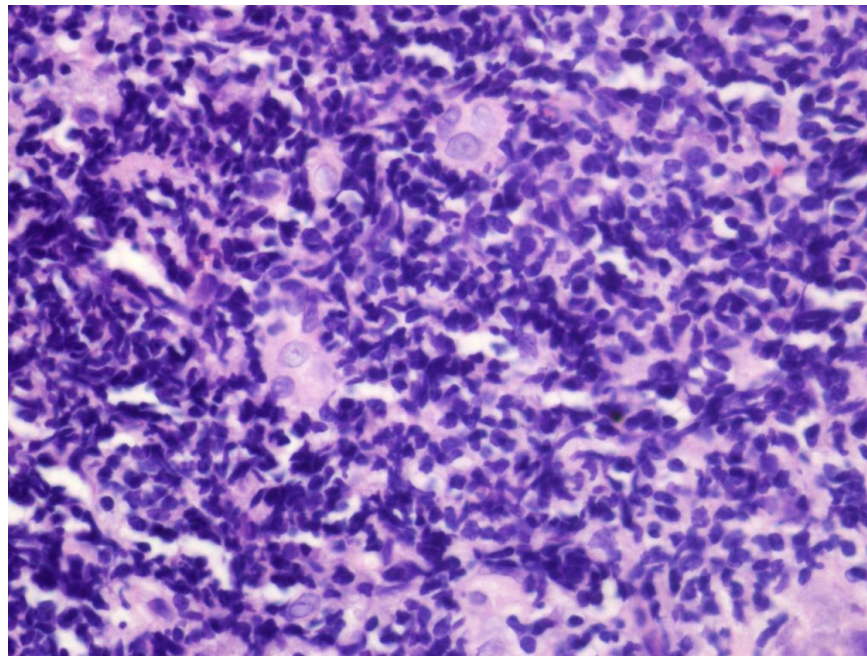
* r (*Spearman*-ов коефицијент корелације), * (p<0,05), ** (p<0,01)

На сликама 5а, 5б, 5ц и 5д, приказано је имунохистохемијски обојено ткиво карцинома ларинкса са различитим степеном густине лимфоцитне и еозинофилне инфилтрације.

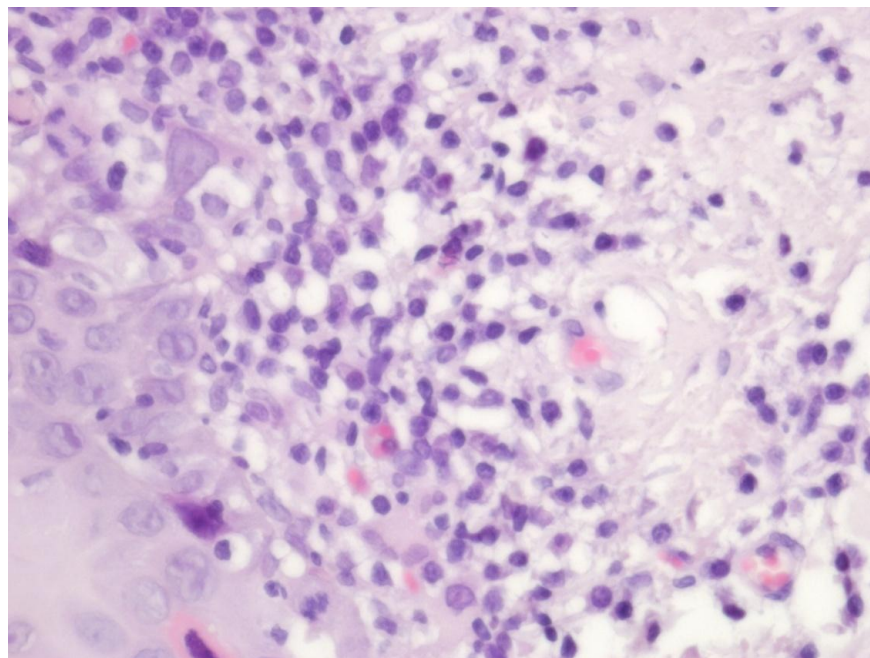
Слика 5а. Ткиво карцинома ларинкса са слабом лимфоцитном инфилтрацијом



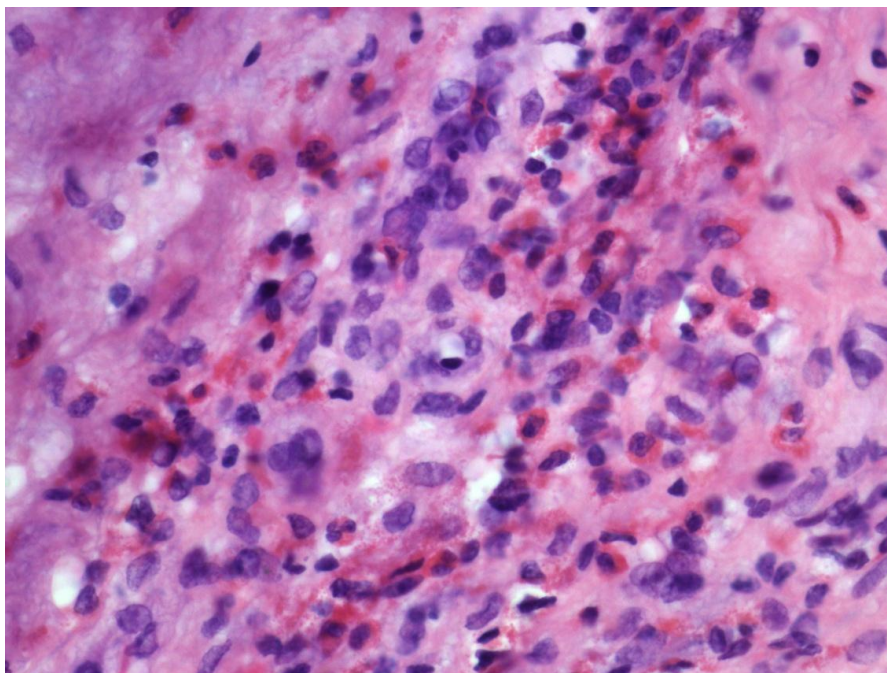
Слика 5б. Ткиво карцинома ларинкса са јаком лимфоцитном инфилтрацијом



Слика 5ц. Ткиво карцинома ларинкса са слабом еозинофилном инфилтрацијом



Слика 5д. Ткиво карцинома ларинкса са јаком еозинофилном инфилтрацијом



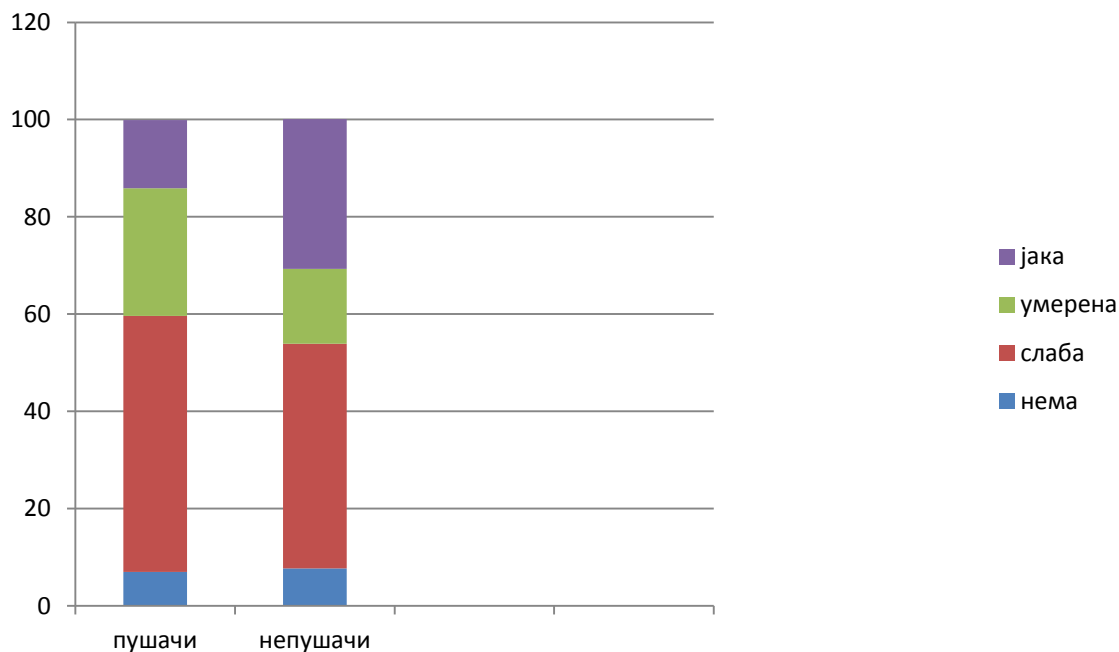
4.6. Поређење пацијената са карциномом ларинкса према штетним навикама и експресији ММП-2 и ММП-9

Корелације између експресије стромалне ММП-2 и стромалне ММП-9 и штетних навика нису рађене, због статистичке безначајности.

4.6.1. Поређење пацијената са карциномом ларинкса према пушачким навикама и експресији ММП-2 и ММП-9

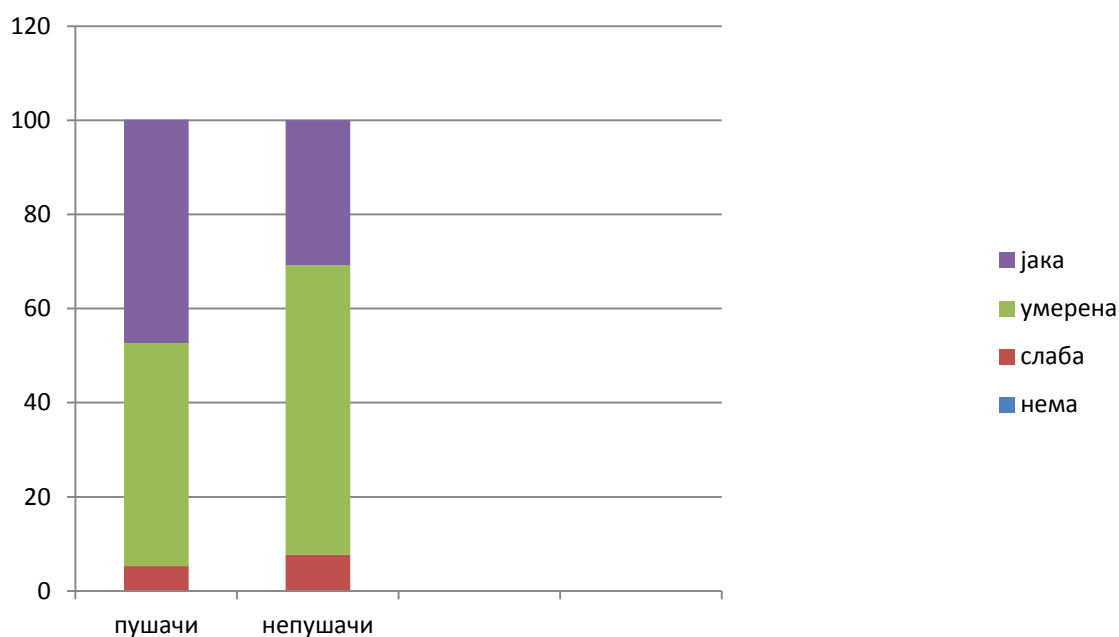
У графиконима бр. 22а и 22б, приказана је дистрибуција нивоа експресије епителијалне ММП-2 (ММП-2Е) и епителијалне ММП-9 (ММП-9Е) код пушача цигарета и непушача.

Графикон 22а. Дистрибуција нивоа експресије ММП-2Е пушача и непушача



Није нађена статистички значајна повезаност између нивоа експресије ММП-2Е и пушачких навика (*Pearson*-ов χ^2 тест: $\chi^2=2,343$, $df=3$, $p>0,05$).

Графикон 22б. Дистрибуција нивоа експресије ММП-9Е пушача и непушача

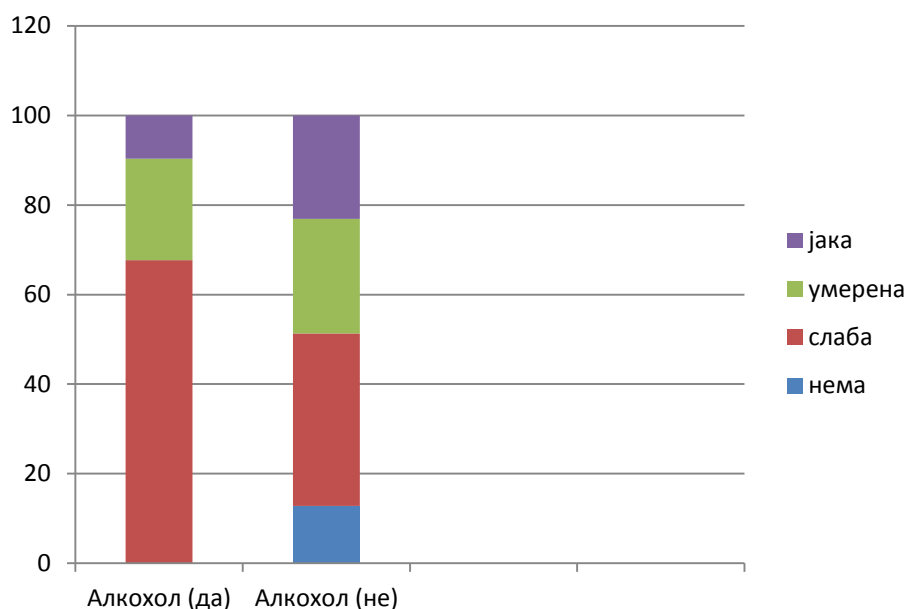


Није нађена статистички значајна повезаност између нивоа експресије ММП-9Е и пушачких навика (*Pearson*-ов χ^2 тест: $\chi^2=1,193$, $df=2$, $p>0,05$).

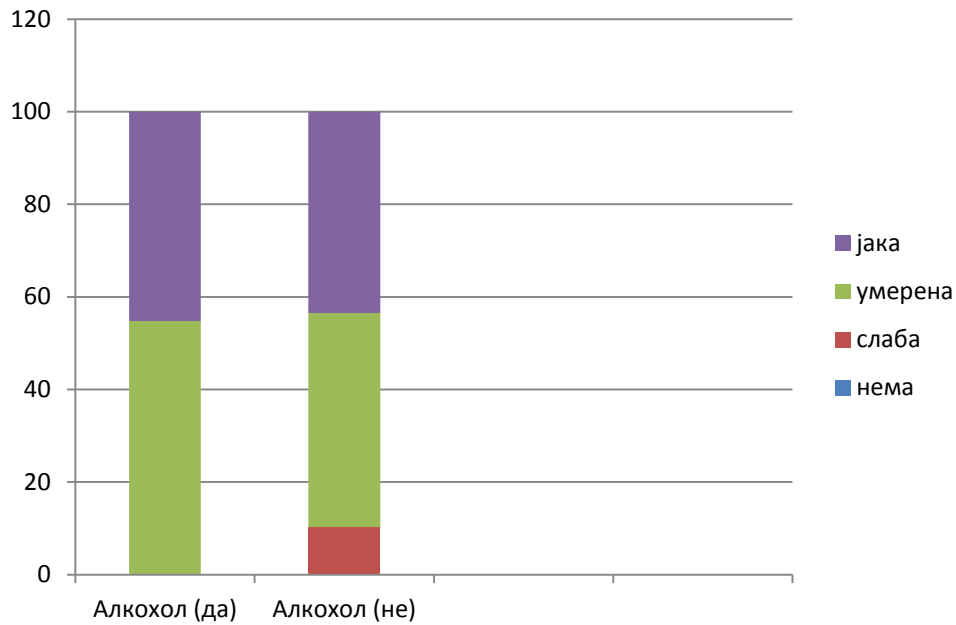
4.6.2. Поређење пацијената са карциномом ларинкса према конзумацији алкохола и експресији ММП-2 и ММП-9

У графиконима бр. 23а и 23б, приказана је дистрибуција нивоа експресије епителијалне ММП-2 (ММП-2Е) и епителијалне ММП-9 (ММП-9Е) у односу на конзумацију алкохола.

Графикон 23а. Дистрибуција нивоа експресије ММП-2Е према конзумацији алкохола



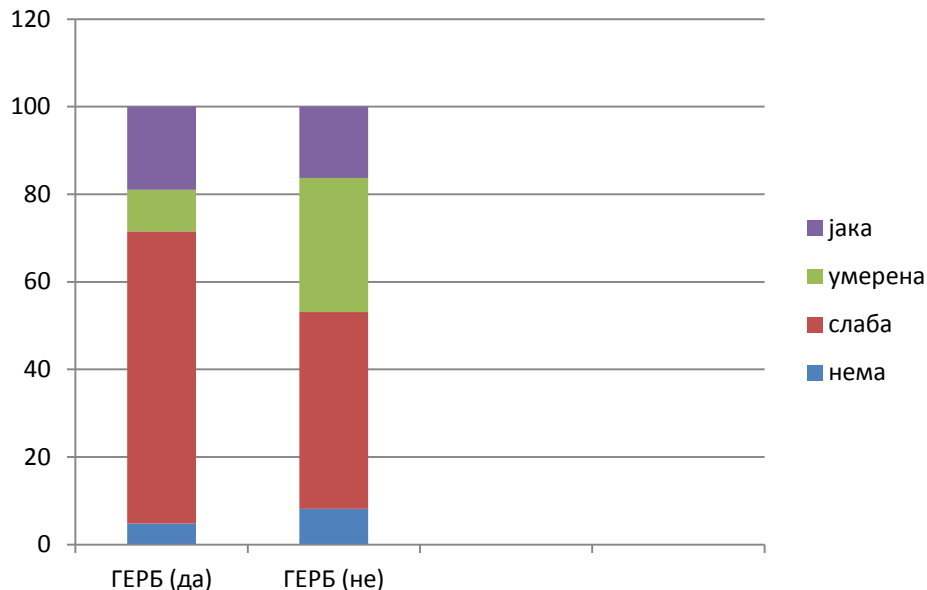
Показана је статистички значајна повезаност између нивоа експресије ММП-2Е и конзумације алкохола (*Pearson*-ов χ^2 тест: $\chi^2=8,726$, $df=3$, $p<0,05$). Особе које континуирано конзумирају алкохол имају израженију експресију ММП-2Е у туморском ткиву.

Графикон 23б. Дистрибуција нивоа експресије ММП-9Е према конзумацији алкохола

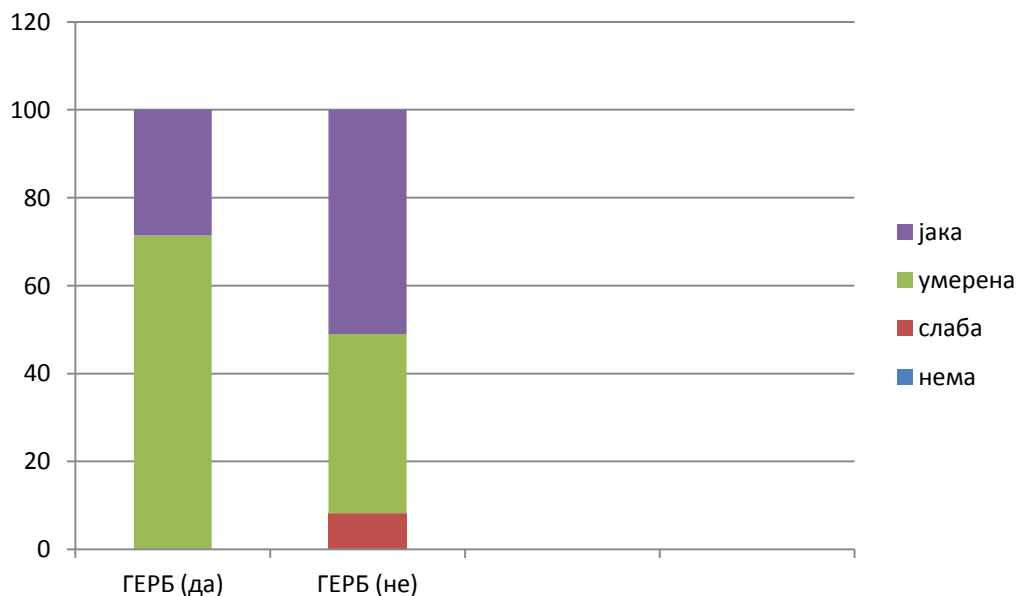
Није нађена статистички значајна повезаност између нивоа експресије ММП-9Е и злоупотребе алкохола (*Pearson*-ов χ^2 тест: $\chi^2=3,450$, $df=2$, $p>0,05$).

4.7. Поређење пацијената са карциномом ларинкса према ГЕРБ и експресији ММП-2 и ММП-9

У графиконима бр. 24а и 24б, приказана је дистрибуција нивоа експресије епителијалне ММП-2 (ММП-2Е) и епителијалне ММП-9 (ММП-9Е) у односу на присуство гастроезофагеално рефлуксне болести (ГЕРБ).

Графикон 24а. Дистрибуција нивоа експресије ММП-2Е према ГЕРБ.

Није нађена статистички значајна повезаност између нивоа експресије ММП-2Е и ГЕРБ (*Pearson*-ов χ^2 тест: $\chi^2=4,348$, $df=3$, $p>0,05$).

Графикон 24б. Дистрибуција нивоа експресије ММП-9Е према ГЕРБ.

Није нађена статистички значајна повезаност између нивоа експресије ММП-9Е и ГЕРБ (*Pearson*-ов χ^2 тест: $\chi^2=6,142$, $df=2$, $p>0,05$).

4.8. Поређење пацијената са карциномом ларинкса према експресији ММП-2 и ММП-9 и клиничкопатолошким карактеристикама тумора у односу на субрегион

Корелације између експресије стромалне ММП-2 и стромалне ММП-9 и клиничкопатолошких параметара глотичних и супраглотичних планоцелуларних карцинома нису рађене, због статистичке безначајности.

4.8.1. Поређење пацијената са карциномом ларинкса према експресији ММП-2 и клиничкопатолошким карактеристикама тумора у односу на субрегион

4.8.1.1. Поређење пацијената са карциномом ларинкса према експресији ММП-2 и T , односно N стадијуму болести у односу на субрегион

Наша студија је показала да ниво епителијалне ММП-2 (ММП-2Е) експресије, у оба субрегиона ларинкса, није у корелацији са T , односно N статусом (Табела 28).

Табела 28. Корелација експресије ММП-2Е и T и N стадијума болести

Клиничкопатолошке карактеристике (n=70)	Матрикс металопротеиназа-2 (ММП-2)	
	r	p
T стадијум	0,044	0,718
N стадијум	0,132	0,277

r – Pearson-ов коефицијент корелације; p – probability (вероватноћа);

4.8.1.2. Поређење пацијената са карциномом ларинкса према експресији ММП-2 и хистолошког степена диференцијације тумора у односу на субрегион

Наша студија је показала статистички значајну негативну повезаност између ММП-2Е имунохистохемијске експресије и хистолошког степена диферентованости ($r=-0,521$, $p=0,008$) тумора супраглотног региона (Табела 29).

Табела 29. Корелација експресије ММП-2Е и хистолошког степена тумора

Регион ларинкса (n=70)	Клиничко патолошке карактеристике	Матрикс металопротеиназа-2 (ММП-2)	
		<i>r</i>	<i>p</i>
Глотис	Хистолошки градус	-0,188	0,215
Супраглотис	Хистолошки градус	-0,521	0,008

r – Pearson-ов коефицијент корелације; *p* – probability (вероватноћа);

4.8.1.3. Поређење пацијената са карциномом ларинкса према експресији ММП-2 и стадијума болести, односно петогодишњем преживљавању (OS) у односу на субрегион

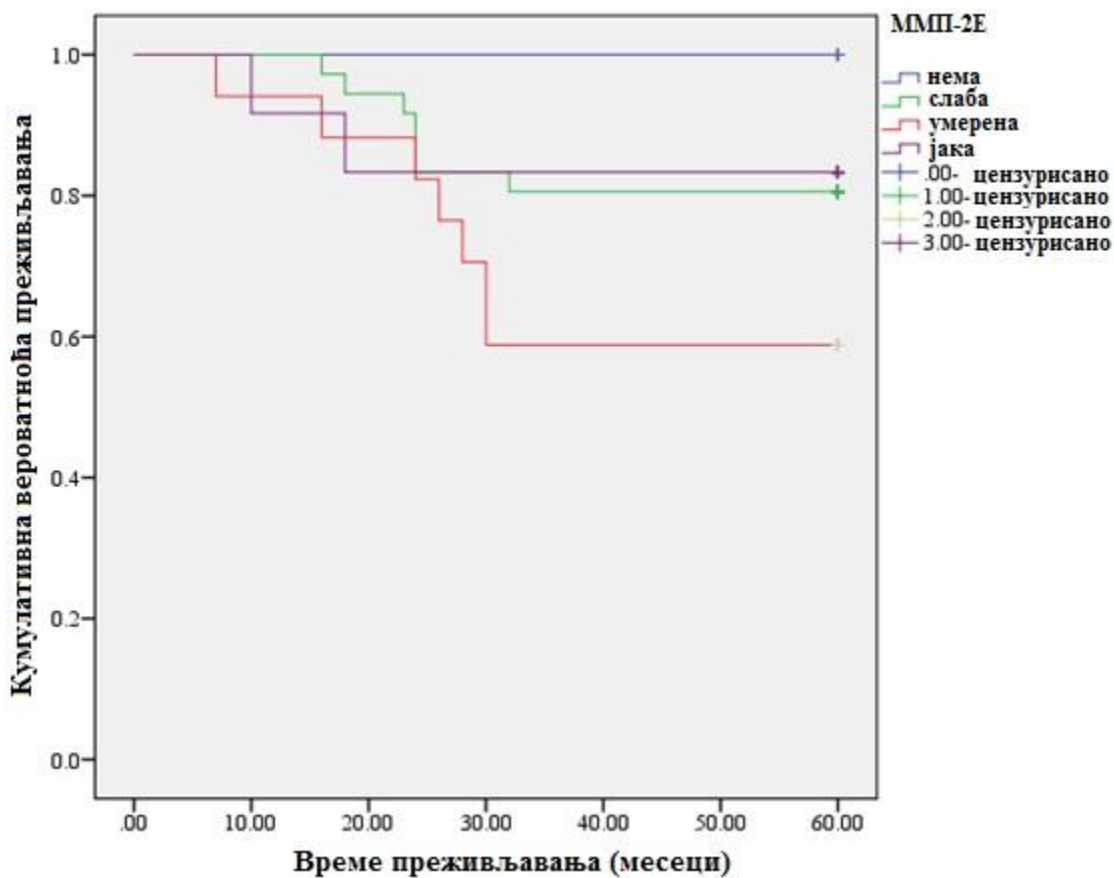
Статистичком обрадом података, није показана повезаност између нивоа епителијалне ММП-2 (ММП-2Е) експресије, у оба субрегиона ларинкса, са стадијумом болести и петогодишњим преживљавањем пацијената (Табела 30).

Табела 30. Корелација експресије ММП-2Е и стадијума болести и петогодишњег преживљавања

Клиничко патолошке карактеристике (n=70)	Матрикс металопротеиназа-2 (ММП-2)	
	<i>r</i>	<i>p</i>
Стадијум болести	0,044	0,720
Петогодишње преживљавање	0,138	0,253

r – Pearson-ов коефицијент корелације; *p* – probability (вероватноћа);

Графикон 25. Карпан-Мејер-ова крива преживљавања у односу на експресију ММП-2Е



4.8.1.4. Поређење пацијената са карциномом ларинкса према експресији ММП-2 и начину туморског раста у односу на субрегион

Што се тиче начина раста тумора, статистички је доказана повезаност ММП-2Е експресије и вегетантног туморског раста глотичних карцинома ($r=0,347$, $p=0,020$). Код тумора супраглотичне регије, није пронађена веза између типа туморског раста и нивоа имунореактивности ММП-2Е (Табела 31).

Табела 31. Корелација експресије ММП-2Е и начина туморског раста

Регион ларинкса (n=70)	Клиничко патолошке карактеристике	Матрикс металопротеиназа-2 (ММП-2)	
		<i>r</i>	<i>p</i>
Глотис	Вегетантни раст	0,347	0,020
Супраглотис	Вегетантни раст	0,265	0,201

r – Pearson-ов коефицијент корелације; *p* – probability (вероватноћа);

4.8.1.5. Поређење пацијената са карциномом ларинкса према експресији ММП-2 и локалног, односно регионалног рецидива болести у односу на субрегион

Статистичком анализом показана је корелација између ММП-2Е експресије и локалног рецидива примарног, супраглотишног тумора ($r=0,415$, $p=0,039$) (Табела 32).

Табела 32. Корелација експресије ММП-2Е и рецидива болести

Регион ларинкса (n=70)	Клиничко патолошке карактеристике	Матрикс металопротеиназа-2 (ММП-2)	
		<i>r</i>	<i>p</i>
Глотис	Локални рецидив	-0,211	0,164
	Регионални рецидив	0,052	0,735
Супраглотис	Локални рецидив	0,415	0,039
	Регионални рецидив	-0,021	0,921

r – Pearson-ов коефицијент корелације; *p* – probability (вероватноћа);

4.8.1.6. Поређење пацијената са карциномом ларинкса према експресији ММП-2 и лимфоваскуларној и перинеуралној инвазији у односу на субрегион

Наше истраживање је показало да код супраглотишних карцинома, ММП-2Е експресија је у корелацији са присуством перинеуралне ($r=0,515$, $p=0,008$) и лимфоваскуларне ($r=0,559$, $p=0,004$) инвазије (Табела 33).

Табела 33. Корелација експресије ММП-2Е и лимфоваскуларне и перинеуралне инвазије тумором

Регион ларинкса (n=70)	Клиничко патолошке карактеристике	Матрикс металопротеиназа-2 (ММП-2)	
		<i>r</i>	<i>p</i>
Глотис	LV инвазија	0,083	0,588
	PN инвазија	0,074	0,542
Супраглотис	LV инвазија	0,559	0,004
	PN инвазија	0,515	0,008

r – Pearson-ов коефицијент корелације; *p* – probability (вероватноћа);

LV – лимфоваскуларна; PN - перинеурална

4.8.2. Поређење пацијената са карциномом ларинкса према експресији ММП-9 и клиничкопатолошким карактеристикама тумора у односу на субрегион

4.8.2.1. Поређење пацијената са карциномом ларинкса према експресији ММП-9 и T , односно N стадијуму болести у односу на субрегион

Анализом добијених података, закључено је да ниво епителијалне ММП-9 (ММП-9Е) експресије, у оба субрегиона ларинкса, није у корелацији са T , односно N статусом болести (Табела 34).

Табела 34. Корелација експресије ММП-9Е и T и N стадијума болести

Клиничкопатолошке карактеристике (n=70)	Матрикс металопротеиназа-9 (ММП-9)	
	r	p
T стадијум	0,190	0,115
N стадијум	0,076	0,531

r – Pearson-ов коефицијент корелације; p – probability (вероватноћа);

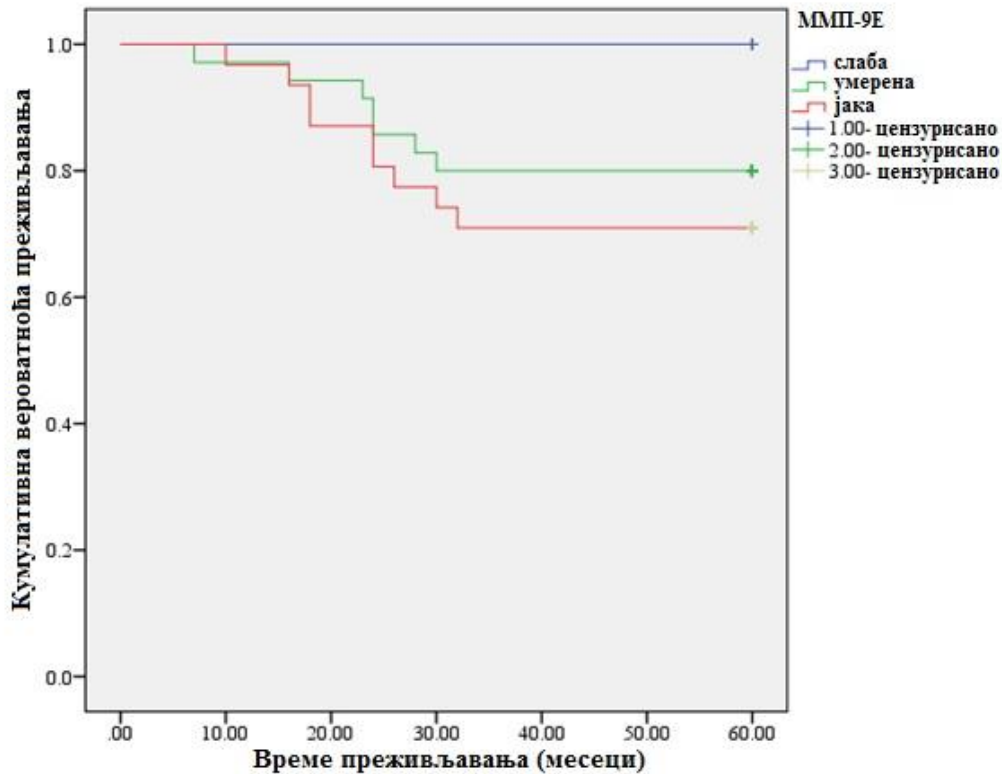
4.8.2.2. Поређење пацијената са карциномом ларинкса према експресији ММП-9 и хистолошког градуса, стадијума болести, односно петогодишњем преживљавању (OS) у односу на субрегион

Статистичком обрадом података, није показана повезаност између нивоа епителијалне ММП-9 (ММП-9Е) експресије, у оба субрегиона ларинкса, са хистолошким градусом, стадијумом болести и петогодишњим преживљавањем пацијената (Табела 35).

Табела 35. Корелација експресије ММП-9Е и хистолошког градуса, стадијума болести и петогодишњег преживљавања

Клиничко патолошке карактеристике (n=70)	Матрикс металопротеиназа-9 (ММП-9)	
	<i>r</i>	<i>p</i>
Хистолошки градус	-0,024	0,844
Стадијум болести	0,190	0,114
Петогодишње преживљавање (OS)	0,154	0,204

r – Pearson-ов коефицијент корелације; *p* – probability (вероватноћа);

Графикон 26. Карпан-Мејер- ова крива преживљавања у односу на експресију ММП-9Е

4.8.2.3. Поређење пацијената са карциномом ларинкса према експресији ММП-9 и начину туморског раста у односу на субрегион

Епителијална ММП-9 (ММП-9Е) експресија је у значајној корелацији са присуством вегетантног начина раста ($r=0,474$, $p=0,001$) карцинома глотичне регије. Код пацијената са туморима супраглотичне локализације, није утврђени слична повезаност (Табела 36).

Табела 36. Корелација експресије ММП-9Е и начина туморског раста

Регион ларинкса (n=70)	Клиничко патолошке карактеристике	Матрикс металопротеиназа-9 (ММП-9)	
		<i>r</i>	<i>p</i>
Глотис	Веgetантни раст	0,474	0,001
Супраглотис	Веgetантни раст	-0,228	0,273

r – Pearson-ов коефицијент корелације; *p* – probability (вероватноћа);

4.8.2.4. Поређење пацијената са карциномом ларинкса према експресији ММП-9 и локалног, односног регионалног рецидива болести у односу на субрегион

Статистичком обрадом података, није показана повезаност између нивоа епителијалне ММП-9 (ММП-9Е) експресије, у оба субрегиона ларинкса, и појаве локалног или регионалног рецидива основне болести (Табела 37).

Табела 37. Корелација експресије ММП-9Е и рецидива болести

Регион ларинкса (n=70)	Клиничко патолошке карактеристике	Матрикс металопротеиназа-9 (ММП-9)	
		<i>r</i>	<i>p</i>
Глотис	Локални рецидив	0,178	0,332
	Регионални рецидив	-0,139	0,361
Супраглотис	Локални рецидив	0,183	0,401
	Регионални рецидив	-0,068	0,747

r – Pearson-ов коефицијент корелације; *p* – probability (вероватноћа);

4.8.2.5. Поређење пацијената са карциномом ларинкса према експресији ММП-9 и лимфоваскуларној и перинеуралној инвазији у односу на субрегион

Епителијална ММП-9 (ММП-9Е) експресија је у значајној корелацији са присуством лимфоваскуларне инвазије ($r=0,334$, $p=0,026$) карцинома глотичне регије. Није пронађена статистици значајна повезаност између ММП-9Е експресије и перинеуралне инвазије планоцелуларног карцинома. Код пацијената са туморима супраглотичне локализације, нија утврђена слична повезаност (Табела 38).

Табела 38. Корелација експресије ММП-9Е и лимфоваскуларне и перинеуралне инвазије тумором

Регион ларинкса (n=70)	Клиничко патолошке карактеристике	Матрикс металопротеиназа-9 (ММП-9)	
		<i>r</i>	<i>p</i>
Глотис	LV инвазија	0,031	0,026
	PN инвазија	0,100	0,409
Супраглотис	LV инвазија	0,345	0,092
	PN инвазија	0,161	0,442

r – Pearson-ов коефицијент корелације; *p* – probability (вероватноћа);
LV – лимфоваскуларна; PN - перинеурална

5. ДИСКУСИЈА

Планоцелуларни карцином ларинкса је један од најчешћих малигнитета главе и врата. У свету је 2018. регистровано 177.422 нових случајева (14). Пет пута чешће се јавља у мушкој популацији, нарочито у петој и шестој деценији живота (54).

У нашем истраживању од 70 испитаника са карциномом ларинкса, већину су чинили мушкарци (85,7%), док су жене биле у мањини (14,3%). Просечна старост пацијената је била 59,41 ($\pm 7,1$), са распоном од 40 до 79 година. Поредџи пол и старост пацијената, није нађена статистички значајна разлика.

Карцином глотичне регије био је заступљен код 45 (64,3%) пацијената, просечне старости 59,7 ($\pm 6,8$) година, а супраглотичног региона код 25 (35,7%) пацијента, просечне старости 58,8% ($\pm 7,7$). Поредџи старосну доб и субрегион ларинкса, није нађена статистички значајна разлика.

Пушење цигарета, представља један од најзначајнијих, независних, фактора ризика за настанак малигног тумора главе и врата. Посматрајући Централну и Јужну Европу, у неким раније објављеним истраживањима, пацијенти са карциномом ларинкса су углавном били пушачи (87%), актуелних је било 75%, а бивших 12% (55). Примећено је да у државама у којима је смањена употреба дувана, смањен је и број новоболелих од карцинома главе и врата (56). Дуван представља ризикофактор, без обзира на број цигарета или пушачки стаж (57), али треба имати увиду да постоји строга повезаност између броја попушених цигарета или пушачког стажа са ризиком за настанак тумора (58). При чему, особе које пуше Марихуану или електричне цигарете, су такође под ризиком за равој карцинома главе и врата (59). У свету се све већи значај даје пасивном пушењу, као етиолошком фактору за настанак малигнитета. Вишегодишња експозиција дуванском диму, носи ризик за карцином ларинкса (60). *Trigg* и сар. у својој студији су приказали да пацијенти са карциномом ларинкса, који су пушили већи број цигарета, били су у вишем стадијуму болести (III или IV стадијум болести), односно имали су узнапредовалу болест (61). Сматра се да код једном насталог карцинома, пушење нема утицај на даљи исход болести. У складу са тим, објављени су резултати истраживања, где није запажено напредовање болести код пацијената који су и даље наставили са пушењем у односу на оне који нису пушачи (62). *Menvielle* и сар. нису нашли статистичку повезаност између примарне локализације тумора и цигарета (63). У литератури се могу наћи и подаци о повезаности дувана са постоперативним компликацијама, код планоцелуларног карцинома ларинкса. Показана је већа учесталост компликација код пушача, без обзира да ли се ради о актуелним или бившим пушачима (64). Пушење цигарета се ретко посматра изоловано од злоупотребе алкохола, јер се у епидемиолошким студијама износе подаци, где пушачи обично конзумирају алкохол, скоро свакодневно. Овај податак се углавном односи на мушку популацију и није уједначен за све регионе света.

У складу са европским трендом, у нашој студији, испитивану групу је чинило 81,4% пушача, те се потвђује тврдања о дувану као једним од водећих фактора ризика за настанак карцинома ларинкса. Пацијенти са супраглотичним тумором су у 96% случајева били пушачи, а код пацијената са глотичним тумором, пушачи су чинили 73,3% испитаника. Анализом података, добијена је статистички значајна повезаност између пушења цигарета и планоцелуларног карцинома супраглотичне регије ларинкса, односно да је дуван, један од главних фактора ризика за настанак супраглотичних карцинома.

Истраживања која су испитивала истовремену употребу дувана и алкохола, као факторе ризика за настанак карцинома главе и врата, показали су њихов потенцирани ефекат у настајању болести (65,66). Само пушење или конзумација алкохола, нису у тој мери канцерогени, колико својим заједничким деловањем. Уколико се један од ове две навике елиминишу, ризик за настанак болести се умањује (67).

У студији *Altieri* и сар. приказана је уска повезаност између карцинома супраглотичне регије и конзумације алкохола (68), док неке друге студије нису нашле статистичку разлику у односу на регион ларинкса (63). Утицај алкохола на преживљавање је предмет истраживања, обзиром да су резултати контраверзни (69). *Lee* је са својим сарадницима нашао повезаност између употребе алкохола и преживљавања код пацијената са туморима главе и врата (70). Сnižена стопа преживљавања се тумачи тиме да се болест код алкохоличара дијагностикује у вишем стадијуму болести. *Gibaldi* и сар. сматрају да поред старосне доби и степена узнапредовалости болести у процену петогодишњег преживљавања и уопште исхода болести карцинома главе и врата, треба мислити и на штетне навике. Када се говори о карциномима ларинкса, првенствено треба узети у обзир конзумацију алкохола, пре настанка болести (71).

У нашем истраживању, 44,3% пацијената је свакодневно конзумирало алкохол, док је више њих (55,7%) повремено. Поредићи субрегионе ларинкса, алкохол је злоупотребљавало 52% испитаника са супраглотичним и 40% испитаника са глотичним карциномом. Није нађена статистичка значајна повезаност између злоупотребе алкохола и субрегиона ларинкса. Треба имати на уму да резултатима истраживања у којима пацијент попуњава упитник и даје одговоре на основу своје савести и одговорности, треба узети са резервом. Када су у питању нпр. одговори у вези алкохола, испитаник може дати лажне наводе, из више разлога: предрасуде, избегавање осуђивања, несхватање озбиљности истраживања и др. С обзиром да резултати досадашњих истраживања нису конзистентни, даља би требало наставити у смислу што боље објективизације и научне проверљивости резултата.

Гастроезофагеална рефлуksна болест (ГЕРБ) се карактерише враћањем (рефлуksом) желудачног садржаја у горње аеродигестивне путеве. Преваленца ГЕРБ је највиша у јужној Азији и југоситочној Европи, преко 25% (72). Многе студије су показале да се ГЕРБ углавном јавља после 50. године живота, код пушача и гојазних. У студији *Ness-Jensen* и сар. доказана је редуkција симптома ГЕРБ, уколико се смањи телесна тежина и престане са пушењем цигарета (73). ГЕРБ врши хроничну иритацију слузнице ларинкса, те представља потенцијалну опасност за настанак премалигних или малигних лезија. Из тих разлога, неопходно је код пацијената који имају симптоме и знаке хроничног ларингитиса и ГЕРБ, спровести третман редуkције гастроезофагеалног рефлуksа, те на тај начин ублажити хроничну иритацију ларингеалне слузнице (74). *Fellmann* и сар. нашли су колоније *Helicobacter pylori* у 38% узорака ткива слузнице усне шупљине, фаринкса и ларинкса (75). Према подацима из литературе, доказана је повезаност инфекције *Helicobacter pylori* и развоја карцинома желуца (76). У студији *Titiz* и сар., детектовано је присуство бакетрије *Helicobacter pylori* у 42,58% узорака ткива планоцелуларног карцинома ларинкса (77). У литератури се могу наћи радови који говоре у прилог повезаности ларингеалног карцинома и инфекције *Helicobacter pylori* (78,79). Последњих година велики број студија се бави односом ГЕРБ и карцинома ларинкса. Међтим, резултати су различити. Код једних је присутна статистичка повезаност између ГЕРБ и карцинома, док код других нема

статистичке значајности (80,81,82). Посматрајући пацијенте са карциномом ларинкса глотичне регије и гастроэзофагеалним рефлуксом, *Morrison* и сар. нису пронашли статистичку повезаност (83). Прегледом доступне литературе, нису нађена истраживања која би поредила повезаност супраглотичних карцинома и гастроэзофагеалног рефлукса. У нашој студији од 70 испитаника, њих 70% није имало дијагностиковану ГЕРБ. Статистичком анализом података није нађена повезаност између ГЕРБ и карцинома ларинкса, нити повезаност са субрегионом.

Фолати су витамини, који се налазе у природи, углавном у зеленом поврћу, као што су зелена салата и спанаћ, али их можемо наћи и у другом поврћу и воћу. Фолати играју важну улогу у синтези и репарацији молекула ДНК (84). Већина до сада спроведених студија су показале да код дефицита фолата, постоји повећани ризик за настанак појединих тумора, као што су карциноми дојке, дебелог црева, простате и др. (85,86,87). У скорије време објављене су студије којим се потврђује заштитна улога фолата у настанку неких карцинома (88). У студији *Kawakita* и сар. доказана је протективна улога фолата у настанку карцинома главе и врата (89). *Almadori* и сар. закључили су да низак ниво фолата представља потенцијалну опасност да се из неке преканцерозне, развије малигна лезија, али и да код пацијената код којих се већ развила малигна болест, постоји већи ризик за локорегионално ширење болести (90). У студији *Chang* и сар наводи се важност одржавања нормалне концентрације фолата у серуму да би се одржао интегритет ДНК ланца и да би се евентуално већ настале грешке поправиле. Такође су регистровали нижи ниво фолата у серуму болесника са карциномом ларинкса у односу на здраве, те саветују употребу суплемената (91). *Nacci* и сар. су спровели истраживање са циљем да се утврди ниво фолата у серуму пацијената са карциномом ларинкса, подељени у више група, на: пушаче, бивше пушаче, непушаче, алкохоличаре, неалкохоличаре и пацијенте са исхемијском болешћу срца. Сви испитаници су имали нижи ниво фолата у серуму, али није нађена статистички значајна разлика међу посматраним групама пацијената (92). С обзиром да неке студије нису потврдиле значај степена конзумације фолата са развојем малигне болести, наша студија је имала за циљ, између осталог, да размотри повезаност количине конзумираних фолата и настанак карцинома ларинкса, као и да утврди повезаност са примарном локализацијом тумора. Међутим, наши подаци нису регистровали повезаност конзумације фолата са настанком болести, нити статистички значајну разлику у односу на субрегион ларинкса.

Податак о позитивној породичној анамнези може бити независни ризикофактор за настанак малигне болести. Податак се односи на малигну болест у првом степену сродства (93), *Garavello* и сар. спровели су истраживање у Италији и Швајцарској, којим је показана нешто учесталија појава карцинома ларинкса, уколико је у продици било чланова који су имали неку врсту колорекаталног или бубрежног карцинома (94). У кинеској популацији, велику клинички контролисану студију, спровео је *Huang* са сарадницима, где је статистички доказана повезаност карцинома главе и врата са породичном предиспозицијом, с тим да се даља истраживања усмере ка животном стилу и навикама у одређеној популацији (95), из разлога, што су неке животне навике, начини исхране, социоекономски услови обично карактеристични за одређену етничку групу. Да генетска предиспозиција може утицати на појаву малигнитета, доказ је и недавна публикација, где је наведена појава ларингеалног карцинома код оца и његовог сина (96). Обрадом наших података, од 70 испитаника, већина је била са негативном породичном анамнезом (62,9%). Поредили примарну

локализацију тумора са генетском предиспозицијом, није нађена статистички значајна повезаност. Из приложеног се још једном потврђује, да је генетски фактор важан за настанак малигне болести, али да, вероватно, није и пресудан.

На основу ембрионалног развоја, ларинкс је подељен на три субрегиона: супраглотис, глотис и субглотис. Карциноми глотичне регије чине 55-60%, супраглотичне 35-40%, а субглотичне око 5% свих карцинома ларинкса (97).

Тумори супраглотиса се углавном детектују у каснијем (*T3/T4*) стадијуму болести, док се тумори глотичне регије, чешће откривају у раном стадијуму болести (*T1/T2*). Разлог касног одласка на медицински преглед, пацијената са супраглотичним карциномом су, пре свега, некарактеристични симптоми (бол у грлу, нелагодност при гутању, оток на врату), а у екстремним случајевима, први преглед је због отежаног дисања (98). Код глотичних карцинома је обрнут случај, пацијенти се јављају раније, јер се промуклост, као доминантни симптом, јавља и код врло малих тумора.

У нашој студији, од 45 глотичних карцинома, већина (80%) пацијената је било у *T1/T2* стадијуму болести. За разлику од њих, већина (72%) пацијената са супраглотичном тумором су била у унапредовалом *T3/T4* стадијуму болести. Добијени резултати су у складу са већином публикованих података.

Лимфоток једног субрегиона ларинкса, не комуницира са другим, јер гласнице немају развијену мрежу лимфних судова. Карциноми ларинкса имају тенденцију ширења на околне структуре, а због богате мреже лимфних судова, шире се и у регионалне лимфне чворове. За одређивање стадијума болести, неопходно је узети у разматрање, поред локализације и величине примарног тумора и захваћеност регионалних лимфних чворова врата и присуство или одсуство удаљених метастаза. Опште прихваћен систем одређивања стадијума болести је *TNM* класификација. На основу стадијума болести, одређују се терапијски модалитети и предвиђа исход лечења.

Присуство увећаних лимфних чворова врата, код пацијената са карциномом ларинкса, говори у прилог регионалне проширености болести. *Mendenhall* и сар. наводе да у раном стадијуму болести (*T1/T2*) глотичних карцинома, позитивни лимфни чворови се налазе у мање од 2% случајева (99). Присуство метастаза у лимфним чворовима врата, представља важан предиктивни фактор за исход болести. У студији *Zhang* и сар., на основу узорка од 333 пацијената, наводи се повезаност између позитивних лимфних чворова глотичних карцинома и прогнозе болести, односно да пацијенти са метастазама на врату имају лошију прогнозу (100).

Код супраглотичних карцинома, прогресија болести у регионалне, цервикалне лимфонодусе је чешћа, због богате мреже лимфних судова. Метастазе супраглотичних карцинома се виђају у 25-50% пацијената (97). Увећани лимфатици се могу детектовати, већ у раном стадијуму болести. Није редак случај да се пацијенти први пут јаве на преглед, тек када напипају отеклину на врату. У недавној објављеној студији, 25,5% пацијената са *T1/T2* тумором примарне локализације у супраглотису, имало је регионалну проширеност болести (101). Присуство метастазе у раном стадијуму болести, говори о агресивности болести и представља лош прогностички знак. *Hicks* је са својим сарадницима доказао да се у 30% оперативно уклоњених лимфних чворова, патохистолошком анализом, докаже метастатско ширење болести, иако није било клиничке преоперативне потврде (102), док је

Ferlito и сар. у својој студији на узорку од 272 пацијената, окултне метастазе нашао у свега 4 (1,4%) случаја (103). Препоруке су, да се код супраглотичних тумора са клинички негативним вратом, свакако учини експлорација, нарочито II, III и IV нивоа. Посматрајући нивое врата, у преко 80% случајева, метастазе захватају II и III ниво (104).

Разматрајући нодални статус наших пацијената, код тумора супраглотичне регије детектовани су позитивни лимфни чворови у 40% случајева, док је истих било само код 2 (4,4%) пацијента са карциномом у пределу глотиса.

Компарацијом међусобне повезаности T и N стадијума болести са примарном локализацијом тумора, добијена је високо статистички значајна позитивна корелација између супраглотичних тумора са T , односно N статусом. Закључује се да се карциноми супраглотиса дијагностикују у вишем T стадијуму болести и чешћом регионалном проширеношћу болести. Са порастом T статуса, расте N статус и обрнуто.

У складу са претходним закључцима, анализом наших података везаних за дисекције врата, закључено је да постоји високо статистички значајна разлика између дисекције врата и појединих субрегиона ларинкса, односно да се код супраглотичних карцинома чешће изводе дисекције врата

Независно од локализације, екстранодално ширење тумора се сматра једним од најважнијих предиктивних фактора. Уколико постоји патохистолошка верификација екстракапсуларне прогресије, треба изабрати агресивнију локорегионалну терапију у циљу превенције удаљених метастаза (105). Колико је важна информација о екстранодалној пропагацији, за прогнозу болести, говори настојање да информација о екстранодалном ширењу болести буде саставни део TNM класификације (106,107).

Како регионалне, тако и удаљене метастазе, представљају лош прогностички знак за оболеле од малигне болести. На узорку од 727 пацијената са тумором главе и врата, *Calhoun* и сар. су доказали метастатско ширење болести у 11,4% пацијената (108). Учесталост удаљених метастаза је већа код пацијената са великим примарним тумором ($T4$) или са регионалним секундарним депозитима. У студији *Spector* и сар. налазе удаљене метастазе чешће код узнапредовалих карцинома ($T4$) и нодалним статусом $N2$ и $N3$ карцинома ларинкса и хипофаринкса (109).

Према студији коју су спровели *Traserra* и сар. учесталост удаљених метастаза, код карцинома ларинкса, је била 6,7% (110). Оне су, углавном последица ширења тумора из супраглотиса у III и IV стадијуму болести (111). Плућа су место најчешћег метастазирања планоцелуларног карцинома, а ређе јетра, кости и кожа. Из тог разлога, предлаже се редован скрининг плућа, код узнапредовалих карцинома ларинкса (112). Сасвим ретко, у плућима се јавља други, примарни тумор, а не метастаза. Појава де ново тумора, утицаће на исход болести, те зато представља лош прогностички знак (113).

Од наших 70 испитаника са планоцелуларним карцином ларинкса, није било клинички и радиолошки верификованих, удаљених метастаза у моменту дијагностиковања болести.

Користећи међународно признату TNM класификацију болести, одредили смо стадијум болести, за сваког пацијента, у моменту откривања примарног карцинома. Пацијенти са супраглотичним карциномом били су углавном у, узнапредовалом, III и IV стадијуму болести (36% и 40%), док су пацијенти са глотичним карциномом, дијагностиковани у, раном, I и II стадијуму болести (53,3% и 24,4%). На основу добијених резултата,

израчуната је високо статистички значајна повезаност између стадијума болести и субрегиона ларинкса. Карциноми глотиса се углавном дијагностикују у раном стадијуму болести, док се карциноми супраглотиса откривају у одмаклом стадијуму.

Степен диферентованости тумора или хистолошки градус (*HG*), поред стадијума болести, има важну улогу у одређивању методе лечења и прогнози болести. Хистолошки градус означава у којој мери се нормално ткиво разликује од туморског, када се посматра под микроскопом. Што је нижи степен диференцијације, то је малигни потенцијал тумора већи. На основу хистолошког градуса, предвиђамо биолошко понашање тумора, односно, да ли ће се и којом брзином болест проширити. *Cosetti* и сар. наводе у својој студији повезаност између степена диференцијације тумора и узнатредовалости болести (114). Тумори који су имали виши хистолошки градус, чешће су давали метастазе у регионалне лимфатике. У студији *Geelen* и сар. пацијенти су имали нижу стопу петогодишњег преживљавања, када је степен диференцијације тумора био лошији (115).

У нашем истраживању највећи број глотичних карцинома (73,3%) су били доброг степена ћелијске диференцијације (*HG I*), док су карциноми супраглотичне примарне локализације били доминантно (52%) умереног степена диференцијације (*HG II*).

Статистичком анализом добијених резултата, регистрована је значајна разлика између хистолошког градуса тумора и субрегиона ларинкса, односно закључено је да су глотични карциноми у значајној мери повезани са вишим степеном ћелијске диференцијације.

Перинеурална инвазија (*PNI*) представља ширење тумора дуж нерва, омогућавајући на тај начин да се болест дисеминује у локалне или удаљене делове тела. *PNI* је карактеристика тумора и других локализација, као што су панкреас, простата, дебело црево, желуцац и др. (116). *PNI* представља неку врсту компликације болести, јер њеним појављивањем болест добија лошији ток. Из тог разлога *PNI* се сматра лошим прогностичким знаком болести. *Fagan* и сар. на узорку од 76 карцинома хипофаринкса и ларинкса у 52% узорака имали су *PNI* туморским ћелијама (117). У студији *Lanzer* и сар. показана је корелација између *PNI* и регионалних метастаза тумора главе и врата. Пацијенти са лимфоваскуларном инвазијом (*LVI*) имали су само ипсилатералне метастазе, док код оних са *PNI*, поред ипсилатералних, нађене су и контралатералне метастазе (118).

Анализирајући субрегионе ларинкса, наши испитаници са глотичним карциномом, након патохистолошке претраге исечака ткива, нису имали присутну *PNI* туморским ћелијама. Код 20% тумора супраглотичне регије, нађена је *PNI*. На основу добијених резултата закључујемо да постоји високо статистичка повезаност између супраглотичних карцинома и *PNI* туморским ћелијама.

Лимфоваскуларна инвазија (*LVI*), такође спада у важне прогностичке маркере тумора ларинкса. Ако се патохистолошким анализом ткива карцинома утврди присуство *LVI*, то значи да се туморске ћелије налазе у лимфним и крвним судовима тумора и да постоји могућност локорегионалне дисеминације болести. *LVI* спада у лоше прогностичке знаке, те је важан параметар при одабиру модалитета лечења. *Vova* и сар. су на узорку од 180 пацијената, потврдили да се лимфоваскуларна инвазија може сматрати, независним прогностичким фактором карцинома хипофаринкса (119). У свом истраживању *Horwich* и сар. наводе да су код 50 пацијената са карциномом ларинкса, у 27% нашли туморе са *LVI* (120).

Од 70 пацијентата, код 24,4% са карциномом глотичног и 28% са карциномом супраглотичног субрегиона, патохистолошком анализом је потврђена лимфоваскуларна инвазија туморским ткивом. Наше истраживање није нашло повезаност између лимфоваскуларне инвазије тумором и субрегиона ларинкса.

Перинеурална и лимфоваскуларна инвазија представљају велики ризик за рецидив основне болести. Истраживање, које је укључивало 368 пацијената, њих 23% је имало рецидив болести, од чега је у 71% случајева, се радило о локалном рецидиву (121). Иначе, статистички, учесталост рецидива је чешћа код карцинома супраглотичне регије. На појаву рецидива, поред локализације, важну улогу има старосна доб и стадијум болести.

Анализирајући податке везане за локорегионални рецидив основне болести, појаву локалног рецидива је имало 17,8%, а регионалног 22,2% наших пацијената са глотичним карциномом. Што се тиче пацијената са супраглотичним карциномом, локални рецидив је регистрован у 16%, а регионални у 24% случајева.

Током студијског истраживања није утврђена статистички значајна разлика између појаве локорегионалног рецидива болести и примарне локализације тумора.

Посматрајући макроскопски изглед тумора, он може бити вегетантни, инфилтративни, инфилтративно-вегетантни и улцерозни. Тумори ларинкса углавном вегетантно расту. У неким студијама се бележи подједнака заступљеност вегетантног и улцерозног облика раста (122). Инфилтративни раст се сматра једним од главних индикатора локорегионалног ширења болести (123).

Наши испитаници са глотичним карциномом у 35,6% случајева тумори су расли инфилтративно, док је код супраглотичних карцинома, туморски раст био инфилтративно-вегетантни код 64% пацијената. Статистичком обрадом података, није показана статистички значајна разлика између начина раста тумора и субрегиона ларинкса

Преживљавање (*overall survival- OS*) код пацијената са планоцелуларним карциномом ларинкса, зависи од више фактора. Пресудну улогу на исход болести има примарна локализација малигног тумора и стадијум болести у моменту постављања дијагнозе. *Layland* и сар. су у својој студији пратили 3887 пацијента са карциномом оралне шупљине, орофарингеалним, хипофарингеалним и ларингеалним карциномом. Петогодишње *OS* за карциноме ларинкса износило је 70% (124). Поредиши субрегионе ларинкса, *OS* код супраглотичних карцинома је краће у односу, на туморе глотичне регије. У Финској је спроведено 20-то годишње истраживање, где је петогодишње *OS* било 64% код супраглотичних и 80%, код глотичних карцинома (125). Слична студија је спроведена и у Норвешкој. *Brandstorp-Boesen* и сар. пратећи 1616 пацијената, просечно петогодишње *OS* за пацијенте са карциномом ларинкса било је 56,8%, с тим да је код супраглотичних тумора *OS* било 38,8%, а код глотичних 64 % (126). Поредиши хируршко лечење и лечење радиотерапијом пацијената са раним стадијумом карцинома ларинкса, стопа петогодишњег *OS* је била већа код оних пацијената, код којих је спроведена нека од хируршких процедура (127). *Tian* и сар. саветују, да баш због лоше прогнозе, лечење узнапредовалих стадијума болести, треба заснивати на хирургији и то операцијом- тотална ларингектомија (128). По свим истраживањима стопа *OS* код узнапредовалих тумора је била мања.

Наше петогодишње праћење преживело је 35 (77,8%) пацијената са глотичним тумором и 19 (76%) са тумором супраглотиса. Статистичком анализом података, није уочена разлика у преживљавању пацијената у односу на субрегион ларинкса.

Посматрајући све клиничкопатолошке параметре карцинома ларинкса у односу на субрегион гркљана, можемо закључити да се наши резултати углавном подударају са резултатима публикованим у стручним часописима. С обзиом, да има неких одступања, свакако треба наставити са детаљним клиничким испитивањима, нарочито на већем броју узорака, не би ли се добили што конзистентнији резултати, на основу којих би се донели закључци, који би били од непроцењиве користи, нарочито при доношењу одлуке о терапији. Нова истраживања треба усмерити и у откривању поузданих биолошких маркера, пре свега, оних који су одговорни за туморску агресивност. Тиме би се предвидело биолошко понашање тумора и евентуална појава регионалних или удаљених метастаза.

Савремена наука, још увек није дефинисала дијагностички и прогностички биомаркер за карциноме ларинкса.

Наше истраживање је имало за циљ процену клиничког и прогностичког значаја експресије ММП-2 и ММП-9, као потенцијалне биомаркере, у ткиву планоцелуларног карцинома ларинкса, поредећи глотичну и супраглотичну регију. Основни разлог за истовремено праћење експресије ММП-2 и ММП-9 је тај, што су ове металопротеиназе сличних карактеристика, али очито различитих улога у процесу развоја и ширења малигне болести. Прегледом доступне литературе, нису нађена клиничка испитивања, где је вршена комплетна процена односа експресија између појединих (епителијалних и стромалних) ММП-2 и ММП-9, према субрегиону ларинкса, према клиничкопатолошким карактеристикама планоцелуларног карцинома ларинкса, према присуству перинеуралне и лимфоваскуларне инвазије туморским ћелијама и према стопи петогодишњег преживљавања пацијената.

У многим, недавно објављеним студијама, регистрован је виши ниво експресије ММП-2 и ММП-9 у ткиву карцинома ларинкса у поређењу са ткивом слузнице хроничног ларингитиса, бенигну, ларингеалних псеудотумора (полипи гласница, едеми гласница, грануломи и др.) и ткива нормалне слузнице (129-132). Ми смо посебно пратили имунореактивност ћелија епитела и ћелија строге ткива карцинома ларинкса и ткива хроничног ларингитиса, као контролне групе. У ћелијама епитела карцинома регистрована је експресија ММП-2 код 92,2%, а у ћелијама строге код 94,3% узорака ткива. У ткиву хроничног ларингитиса, епителијална експресија је била изражена код 27,1%, а стромална код 21,4% узорака ткива. Што се тиче ММП-9, епителијална експресија је била детектована у свим узорцима ткива карцинома ларинкса, док је стромална регистрована у 98,6% узорака. У ткиву хроничног ларингитиса, проценат експресије ћелија епитела и строге је био знатно нижи (10% и 14,3%). Обрадом добијених резултата, добијена је статистички значајна разлика у нивоу експресије ММП-2 и ММП-9 у ткиву ларингеалног карцинома у односу на ткиво хроничног ларингитиса.

Матрикс металопротеиназе настају продукцијом различитих типова ћелија (инфламаторних, фибробласта, макрофага) епитела и строге (51-53,129,130,133-135).

Као што је презентовано у студији *Uloza* и сар., и ми смо мерили ММП-2 и ММП-9 имунореактивност епителијалних и стромалних ћелија карцинома оба субрегиона

ларинкса. *Uloza* и сар. наводе већу експресију испитиваних ММП у ћелијама строме, у односу на ћелије епитела (129). Међутим, у нашем истраживању није нађена статистички значајна разлика у експресији ММП-2 и ММП-9, поредећи епител и строму.

Прегледом доступне литературе, нема података о истраживањима којима је вршено поређење експресије ММП-2 или ММП-9 супраглотичних, у односу на глотичне карциноме. Наши резултати су демонстрирали позитивну корелацију између епителијалне и стромалне ММП-2 и епителијалне и стромалне ММП-9, како код глотичних, тако и код супраглотичних карцинома. Поредећи интензитета експресија појединачних ММП и субрегионе ларинкса, није нађена статистички значајна разлика.

Још давне 1984. год., *Pastrnak* и сар. су навели да код неких малигнух тумора постоји корелација између концентрације еозинофила и стопе преживљавања (136). Улога еозинофила у туморима главе и врата, није сасвим разјашњена, обзиром да неки резултати истраживања негирају, а други потенцирају значај еозинофилије на, пре свега, преживљавање и исход болести (137). У студијама *Ercan* и сар. и *Etit* и сар. где је испитиван прогностички значај стромалне еозинофилије у туморима ларинкса, није нађена статистички значајна повезаност са исходом болести (138,139).

У последње време, све је више присталица теорије о кључној улози имуног система у настанку и прогресији малигне болести (140). У недавно објављеном раду, доказана је позитивна корелација између лимфоцитне инфилтрације тумора главе и врата са прогнозом и терапијским одговором (141). У студији *Papadas* и сар. нађена је позитивна корелација између нивоа експресије ММП-9 и лимфоцитне инфилтрације у ткиву ларингеалног карцинома (142). Наше истраживање није потврдило овај резултат, али је добијена статистички значајна позитивна корелација између густине лимфоцита у ткиву карцинома ларинкса и нивоа експресије ММП-2. Такође, је уочена позитивна корелација између концентрације еозинофила и лимфоцита. Нема статистички значајне релације између нивоа еозинофила и нивоа експресије ММП-2 и ММП-9. Из добијених резултата се потврђује становиште, да имунолошки одговор, вероватно, има утицај на билошко понашање тумора.

Резултати добијени из различитих клиничких студија са великим бројем болесника, показали су повезаност неких генских промена, пушача цигарета и конзумента алкохола, са настанком карцинома ларинкса (143,144). *Zhu* и сар. у својој студији наводе повезаност дувана са генским ММП-2 и ММП-9 полиморфизмом и развојем ларингеалне неоплазме (145). Генерално, прегледом доступне литературе, практично нема резултата о међусобној повезаности експресије ММП-2, односно ММП-9 у ткиву карцинома ларинкса и злоупотребе дувана и цигарета, на основу којих би се могли донети неки релевантни закључци. *Uloza* у свом раду наводи да нема повезаности између дувана, односно алкохола и експресије ММП-2 и ММП-9 (129). Нашим истраживањем, такође није нађена повезаност између нивоа експресије ММП-2 и ММП-9 и пушачких навика. Међутим, уочена је статистички значајна корелација између нивоа експресије ММП-2 и конзумације алкохола, односно особе које континуирано конзумирају алкохол имају израженију експресију ММП-2 у епителним ћелијама туморског ткива. Из претходно наведеног, може се закључити да ММП-2 има већу улогу у процесу карциногенезе код особа које конзумирају алкохол, и обрнуто. Што се тиче ММП-9, не могу се извести исти закључци, јер нема међусобно повезаног односа алкохола и експресије ММП-9.

Гастроезофагеална рефлуksна болест (ГЕРБ) се не сматра примарним фактором ризика за настанак малигног тумора гркљана. Као што је већ наведено, ГЕРБ се обично виђа код пушача и алкохоличара, те се сматра, пре свега, последицом лоших нутритивних навика. Поредићи ниво експресије ММП-2 и ММП-9 код планоцелуларног карцинома и присуство ГЕРБ, није запажена статистичка значајност.

Последњих година, објављено је неколико радова са тенденцијом утврђивања односа интезитета експресије ММП-2 и ММП-9 и клиничкопатолошких карактеристика карцинома ларинкса. Међутим, резултати су контрадикторни.

Наша студија, статистички није доказала повезаност између експресије испитиваних протеина и стадијума болести, односно *T* и *N* статуса. *Liu* и сар. су демонстрирали исту тврдњу. Резултати, добијени релазацијом студије *Wael* и сар. подударају се са претходним, а односе само на експресију ММП-2 (134,135). Међутим, *Gou* је са својим сарадницима, на узорку од 48 ткива планоцелуларног карцинома нашао корелацију између ММП-2 и ММП-9 експресије и клиничког стадијума болести (52).

Присуство регионалних метастаза је важан прогностички фактор. У складу са резултатима наше студије, *Akdeniz* и сар. нису регистровали корелацију између нивоа експресије ММП-9 и клиничког стадијума болести, односно присуства регионалних секундарних депозита (146). Међутим, у студијама *Sarioglu* и сар. и *Yuce* и сар. наведена је статистички значјна повезаност између захваћености лимфних чворова врата код пацијената са глотичним и супраглотичним тумором и експресије ММП-2 и ММП-9 (131,147).

Степен ћелијске диферентованости ткива тумора, може бити предиктор туморског понашања и бити од користи при одабиру терапијског третмана. Многа истраживања имају за циљ процену корелације између ММП експресије и степен ћелијске диференцијације. Међутим, и ови резултати нису конзистентни. Током свог истраживања, *Liu* и сар. и *Pietruszewska* и сар. су имали повећани ниво ММП-2 експресије код умерено и слабо диферентованих карцинома ларинкса (148,149). Наша студија је имала исту корелацију код супраглотичних карцинома, на основу које се закључује да што је нижи хистолошки градус (*HG*) тумора, то је израженија експресија испитиваног ензима.

Многе, претходно обављене студије, регистровале су повезаност између високе ММП-2 и ММП-9 експресије и лоше прогнозе болести (52,53,130). Из тог разлога, један број аутора истиче да би високи ниво експресије ММП-2 и ММП-9 могао бити потенцијални маркер лоше прогнозе карцинома ларинкса. Иако, ми нисмо открили претходно наведену повезаност, *Mallis* и сар. су уз помоћ *Kaplan-Meier* методе, приказали статистичку разлику ($p < 0.05$) у петогодишњем преживљавању између група са позитивном и негативном ММП-2 експресијом, код пацијената са карциномом глотичне примарне локализације (150).

Бројне студије су се бавиле проценом ММП-2 и ММП-9 имунореактивности ткива карцинома ларинкса. Међутим, у само неколико студија, вршена је анализа резултата, упоређујући субрегионе ларинкса (130,134,150). Наше истраживање је имало задатак да процени и упореди, експресију испитиваних ММП код глотичних и супраглотичних карцинома. Из тих разлога, веома су важни резултати који се односе на перинеуралну и лимфоваскуларну инвазију туморским ћелијама. Нашом анализом, доказана је корелација између нивоа ММП-2 експресије и присуства перинеуралне и лимфоваскуларне инвазије и

присуства локалног рецидива болести код тумора супраглотичне регије. На основу резултата, износи се закључак, да се ММП-2 може сматрати потенцијалним, прогностичким фактором ширења болести код пацијента са супраглотичним карциномом.

Статистичком анализом наших података, такође смо закључили да постоји корелација између ММП-9 експресије и присуства лимфоваскуларне инвазије код пацијената са глотичним карциномом. *Wittekindt* и сар. наводе позитивну корелацију између ММП-9 експресије и густине крвних судова, те предлажу ММП-9 потенцијалним бимаркером за уништавање туморских крвних судова, током онколошке терапије карцинома ларинкса (151). У недавној студији *Colovic* и сар. приказана је појачана експресија ММП-9 код пацијената са релапсом болести, те се ММП-9 може сматрати и потенцијалним, прогностичким фактором за прогресију и рецидив болести глотичних карцинома (152). Што се тиче начина туморског раста, уочена је позитивна корелација између нивоа експресије ММП-2 и ММП-9 и вегетантног начина раста, код тумора глотичне локализације. Закључује се, да се ММП-2, а посебно ММП-9 може сматрати потенцијалним предиктором вегетантног раста тумора глотиса.

На крају, треба истаћи, да током истраживања није одређиван ниво ММП-2 и ММП-9 у серуму пацијената са карциномом ларинкса, нити детекција *mRNA* експресије за ММП-2 и ММП-9, *PCR* методом. У неким студијама приказана је повезаност између серумских нивоа/ *mRNA* ткивне експресије за ММП-2 и ММП-9 и клиничког стадијума, односно стопе преживљавања код пацијената са планоцелуларним карциномом ларинкса (153-155).

6. ЗАКЉУЧЦИ

1. Није нађена статистички значајна разлика код пацијената са карциномом ларинкса, поредећи старосну доб и субрегион.
2. Већина пацијената са карциномом ларинкса су пушачи. Поредећи злоупотребу дувана и захваћени субрегион ларинкса, закључак је да је пушење у високом проценту повезано са карциномом супраглотишне локализације.
3. Карциноми супраглотиса се дијагностикују у вишем стадијуму болести и са већ регионално узрапредовалом болешћу.
4. Глотични карциноми се дијагностикују у вишем степену ћелијске диференцијације.
5. У ткиву супраглотишног карцинома, чешћа је перинеурална инвазија туморским ћелијама.
6. Не постоји статистички значајна повезаност између начина туморског раста и субрегиона ларинкса.
7. Нема разлике у стопи петогодишњег преживљавања између пацијената са глотичним и супраглотишним карциномом.
8. Ниво експресије ММП-2 и ММП-9 је виши у ткиву карцинома ларинкса, него у ткиву хроничног ларингитиса.
9. Нема разлике у нивоу експресије између ММП-2 и ММП-9 у ткиву карцинома ларинкса, нити међусобне разлике у експресији у односу на примарну локализацију тумора.
10. ММП-2 експресија је у корелацији са конзумацијом алкохола, хистолошким градусом, периваскуларном и лимфоваскуларном инвазијом супраглотишних карцинома.
11. ММП-9 је у корелацији са начином туморског раста и лимфоваскуларном инвазијом глотичних карцинома.
12. Нема статистички значајне повезаности између експресије ММП-2 и ММП-9 и стадијума болести, односно стопом петогодишњег преживљавања пацијената са карциномом ларинкса.
13. Постоји позитивна корелација између густине субепителијалне лимфоцитне инфилтрације у ткиву карцинома ларинкса и нивоа експресије ММП-2. Такође, концентрација лимфоцита је у високом проценту у позитивној корелацији са густином еозинофилне инфилтрације.
14. ММП-2 се може сматрати потенцијалним, прогностичким фактором за пацијенте са супраглотишним карциномом, код којих постоји високи ризик за рецидив и ширење болести.

15. MMP-9 се може сматрати предиктором за вегетантни туморски раст и присуство лимфоваскуларне инвазије туморским ћелијама код карцинома глотичног субрегиона.

7. ЛИТЕРАТУРА

1. Sadler TW. Medicinska embriologija. 10. Izd. Zagreb: Školska knjiga; 2009, str. 197-199.
2. Kirchner JA. What have whole organ sections contributed to the treatment of laryngeal cancer. *Ann Otol Rhinol Laryngol* 1989; 98(9): 661-6.
3. Sasaki CT, Kim YH. Anatomy and physiology of the larynx. In: Snow JB, Balenger JJ. Eds. *Ballanger's Otorhinolaryngology. Head and Neck Surgery* 16th ed. Hamilton: BC Decker Inc; 2003.
4. Janfaza P, Montgomery WW, Randolph GW. Anterior regions of the neck. The larynx and trachea. In: Janfaza P, Nadol JB, Jr, Galla RJ, Fabian RL, Montgomery WW, eds. *Surgical anatomy of the head and neck*. Philadelphia: Lippincott Williams and Wilkins; 2001: 639-74.
5. Stranding S. Neck and upper aerodigestive tract-Larynx. In: Stranding S, Berkovitz BKB, Hackney CM, editors. *Grey's anatomy*, 39th edition. Elsevier Churchill Livingstone; 2005. p. 636-643.
6. Robbins KT, Medina JE, Wolfe GT, Levine PA, Sessions RB, Pruet CW. Standardizing neck dissection terminology. Official report of the Academy's Committee for Head and Neck Surgery and Oncology. *Arch Otolaryngol Head Neck Surg* 1991; 117(6): 601-5.
7. Robbins KT, Clayman G, Levine PA, Medina J, Sessions R, Shaha A et al. Neck dissection classification update: revisions proposed by the American Head and Neck Society and the American Academy of Otolaryngology-Head and Neck Surgery. *Arch Otolaryngol Head Neck Surg* 2002; 128(7): 751-8.
8. Edge SB, Byrd DR, Compton CC, Fritz AG, Greene FL, Trotti A, eds. *AJCC Cancer Staging Manual*, 7th edn. New York: Springer; 2010: 1-28; 57-68.
9. Ferlito A, Robbins KT, Shaha AR, Pellitteri PK, Kowalski LP, Gavilan J et al. Current considerations in neck dissection. *Acta Otolaryngol* 2002; 122(3): 323-9.
10. Pillsbury HC, Clark M. A rationale for therapy of the N0 neck. *Laryngoscope* 1997; 107(10): 1294-315.
11. Jennings CR. Surgical anatomy of the neck. In: Flint PW, Haughey BH, Lund VJ et al. *Cummings Otolaryngology - Head and Neck Surgery*, 5th edition. Philadelphia: Saunders; 2010. p. 1746-1749.
12. Vukašinović M. Klinička procena značaja uspostavljanja fonacijskih automatizama kod pseudotumorskih uzroka disfonija (rad iz uže specijalizacije). Beograd: Univerzitet u Beogradu, Medicinski fakultet; 1999.
13. Ferlay J, Shin HR, Bray F, Forman D, Mathers C, Parkin DM. Estimates of worldwide burden of cancer in 2008: GLOBOCAN 2008. *Int J Cancer*. 2010; 127: 2893-2917.
14. Ferlay J, Shin HR, Bray F, Forman D, Mathers C, Parkin DM, eds. *GLOBOCAN 2018. Cancer Incidence and Mortality Worldwide: IARC Cancer Base No. 10* [Internet]. Lyon: International Agency for Research on Cancer; 2020. Available from <http://globocan.iarc.fr>
15. Miljuš D, Živković S, eds. *Cancer incidence and mortality in Central Serbia 2015. Cancer registry of Central Serbia: Report No. 17*. Belgrade: Institute of Public Health of Serbia "Dr. Milan Jovanovic-Batut"; 2017. (in Serbian)

16. Chatenoud L, Garavello W, Pagan E, Bertuccio P, Gallus S, La Vecchia C et al. Laryngeal cancer mortality trends in European countries. *Int J Cancer* 2016; 138(4): 833-42.
17. Bosetti C, Garavello W, Levi F, Lucchini F, Negri E, La Vecchia C. Trends in laryngeal cancer mortality in Europe. *Int J Cancer* 2006; 119(3): 673-81.
18. Maier H, Tisch M, Kyrberg H, Conradt C, Weidauer H. Occupational hazardous substance exposure and nutrition. Risk factors for mouth, pharyngeal and laryngeal carcinomas. *HNO* 2002; 50(8): 743-52.
19. Franceschi S, Talamini R, Barra S, Baron AE, Negri E, Bidoli E et al. Smoking and drinking in relation to cancers of the oral cavity, pharynx, larynx, and esophagus in northern Italy. *Cancer Res* 1990; 50(20): 6502-7.
20. Szymanska K, Hung RJ, Wunsch-Filho V, Eluf-Neto J, Curado MP, Koifman S et al. Alcohol and tobacco, and the risk of cancers of the upper aerodigestive tract in Latin America: a case-control study. *Cancer Causes Control* 2011; 22(7): 1037-46.
21. Mayne ST, Cartmel B, Kirsh V, Goodwin WJ Jr. Alcohol and tobacco use prediagnosis and postdiagnosis, and survival in a cohort of patients with early stage cancers of the oral cavity, pharynx, and larynx. *Cancer Epidemiol Biomarkers Prev* 2009; 18(12): 3368-74.
22. Gray N, Zaridze D, Robertson C, Krivosheeva L, Sigacheva N, Boyle P. Variation within global cigarette brands in tar, nicotine and certain nitrosamines: analytic study. *Tob Control* 2000; 9: 351.
23. Zuo JJ, Tao ZZ, Chen C, Hu ZW, Xu ZX, Zheng AY et al. Characteristics of cigarette smoking without alcohol consumption and laryngeal cancer: overall and time-risk relation. A meta-analysis of observational studies. *Eur Arch Otorhinolaryngol* 2017; 274(3): 1617-1631.
24. Maier H, Dietz A, Gewelke U, Heller WD, Weidauer H. Tobacco and alcohol and the risk of head and neck cancer. *Clin Investig* 1992; 70(3-4): 320-7.
25. La Vecchia C, Zhang ZF, Altieri A. Alcohol and laryngeal cancer: an update. *Eur J Cancer Prev* 2008; 17(2): 116-24.
26. Das RD, Nagpal JK. Understanding the biology of oral cancer. *Med Sci Monit* 2002; 8(11): 258-67.
27. Copper MP, Smit CF, Stanojic LD, Devriese PP, Schouwenburg PF, Mathus-Vliegen LM. High incidence of laryngopharyngeal reflux in patients with head and neck cancer. *Laryngoscope* 2000; 110(6): 1007-11.
28. Qadeer MA, Colabianchi N, Vaezi MF. Is GERD a risk factor for laryngeal cancer? *Laryngoscope* 2005; 115(3): 486-91.
29. Galli J, Frenguelli A, Calo L, Agostino S, Cianci R, Cammarota G. Role of gastroesophageal reflux in precancerous conditions and in squamous cell carcinoma of the larynx: our experience. *Acta Otorhinolaryngol Ital* 2001; 21(6): 350-5.
30. Galli J, Cammarota G, Volante M, De Corso E, Almadori G, Paludetti G. Laryngeal carcinoma and laryngo-pharyngeal reflux disease. *Acta Otorhinolaryngol Ital* 2006; 26(5): 260-263.
31. Wang XI, Thomas J, Zhang S. Changing trends in human papillomavirus-associated head and neck squamous cell carcinoma. *Ann Diagn Pathol* 2012; 16(1): 7-12.
32. Tsimplaki E, Argyri E, Sakellaridis A, Kyrodimos E, Xesfyngi D, Panotopoulou E. Oropharyngeal and laryngeal but not oral cancers are strongly associated with high-risk human papillomavirus in 172 Greek patients. *J Med Virol* 2017; 89(1): 170-176.

33. Li X, Gao L, Li H, Gao J, Yang Y, Zhou F et al. Human papillomavirus infection and laryngeal cancer risk: a systematic review and meta-analysis. *J Infect Dis* 2013; 207(3): 479-88.
34. Halec G, Holzinger D, Schmitt M. et al. Biological evidence for a causal role of HPV16 in a small fraction of laryngeal squamous cell carcinoma. *Br J Cancer* 2013; 109(1): 172–83.
35. Torrente MC, Rodrigo JP, Higentz M Jr, Dikkers FG, Rinaldo A, Takes RP et al. Human papillomavirus infections in laryngeal cancer. *Head Neck* 2011; 33(4): 581-6.
36. Sessions RB, Harrison LB, Forastiere AA. Tumors of the Larynx and Hypopharynx. In: Devita VT, Hellman S, Rosenberg SA, editors. *Cancer: Principles and Practice of Oncology*, 6th edition. Lippincott Williams & Wilkins; 2001. p 631-637.
37. Langevin SM, McClean MD, Michaud DS, Eliot M, Nelson HH, Kelsey KT. Occupational dust exposure and head and neck squamous cell carcinoma risk in a population-based case-control study conducted in the greater Boston area. *Cancer Med* 2013; 2(6): 978-86.
38. Pecina-Slaus N, Kljaic M, Nikuseva-Martic T. Loss of heterozygosity of APC and CDH1 genes in laryngeal squamous cell carcinoma. *Pathol Res Pract* 2005; 201(8-9): 557-63.
39. Marioni G, Marchese-Ragona R, Cartei G, Marchese F, Staffieri A: Current opinion in diagnosis and treatment of laryngeal carcinoma. *Cancer Treat Rev* 2006; 32(7): 504-15
40. Gale N, Michaels L, Luzar B, Poljak M, Zidar N, Fischinger J et al. Current review on squamous intraepithelial lesions of the larynx. *Histopathology* 2009; 54(6): 639-56.
41. Avila DD, D'Avila J, Gois C, Barretto L. Premalignant laryngeal lesions: twenty-year experience in specialized service. *Int Arch Otorhinolaryngol* 2014; 18(4): 352–356.
42. Barnes L. *Surgical Pathology of the head and neck*. 2nd ed. New York: Marcel Dekker, 2001:113-209.
43. Reidenbach MM: The paraglottic space and transglottic cancer: anatomical considerations. *Clinical anatomy* 1996; 9(4): 244-251.
44. Jović MR, Vlaški Lj, Dankuc D, Komazec Z. *OTORINOLARINGOLOGIJA-Hirurgija glave i vrata*, 2th ed. Medicinski fakultet Novi Sad, 2009: str. 286.
45. Beahrs OH, Myers MH. *Manual for staging of cancer*, American Joint Committee on Cancer. 2th ed. Philadelphia: J.B. Lippincot Co.; 1983, str.38-39.
46. Jakobsson PA, Eneroth CM, Killander D, Moberger G, Martensson B. Histologic classification and grading of malignancy in carcinoma of the larynx. *Acta Radiol Ther Phys Biol* 1973; 12(1): 1-8.
47. Brierley JD, Gospodarowicz MK, Wittekind Ch. *TNM classification of malignant tumours* (8th ed.). Chichester, West Sussex, UK: Wiley-Blackwell, 2017.
48. Saarilahti K, Kajanti M, Kouri M, Aaltonen LM, Franssila K, Joensuu H. Cyclin A and Ki-67 expression as predictors for locoregional recurrence and outcome in laryngeal cancer patients treated with surgery and postoperative radiotherapy. *Int J Radiat Oncol Biol Phys* 2003; 57(4): 986-95.
49. Kontic M, Colovic Z, Paladin I, Gabelica M, Baric A, Pesutic-Pisac V. Association between EGFR expression and clinical outcome of laryngeal HPV squamous cell carcinoma. *Acta Otolaryngol* 2019; 139(10): 913-917.
50. Cercelaru L, Stepan AE, Margaritescu C, Osman A, Popa IC, Simionescu CE et al. P53 Immunoexpression in Laryngeal Squamous Cell Carcinoma. *Curr Health Sci J* 2017; 43(4): 325-329.

51. Whittaker M, Ayscough A. Matrix metalloproteinases and their inhibitors: current status and future challenges. *Celltransmissions* 2011; 17(1): 3-14.
52. Gou X, Chen H, Jin F, Wu W, Li Y, Long J et al. Expressions of CD147, MMP-2 and MMP-9 in laryngeal carcinoma and its correlation with poor prognosis. *Pathol Oncol Res* 2014; 20(2): 475-81.
53. Rydlova M, Holubec L Jr, Ludvikova M Jr, Kalfert D, Franekova J, Povysil C et al. Biological activity and clinical implications of the matrix metalloproteinases. *Anticancer Res* 2008; 28(2B): 1389-97.
54. Cattaruzza MS, Maisonneuve P, Boyle P. Epidemiology of laryngeal cancer. *Eur J Cancer B Oral Oncol* 1996; 32B: 293–305.
55. Hashibe M, Boffetta P, Zaridze D, Shangina O, Szeszenia-Dabrowska N, Mates D et al. Contribution of tobacco and alcohol to the high rates of squamous cell carcinoma of the supraglottis and glottis in Central Europe. *Am J Epidemiol* 2007;165(7): 814-20.
56. Rettig EM, D'Souza G. Epidemiology of head and neck cancer. *Surg Oncol Clin N Am* 2015; 24(3): 379-96.
57. Berthiller J, Straif K, Agudo A, Ahrens W, Bezzerra Dos Santos A, Boccia S et al. Low frequency of cigarette smoking and the risk of head and neck cancer in the INHANCE consortium pooled analysis. *Int J Epidemiol* 2016; 45(3): 835-45.
58. Zuo JJ, Tao ZZ, Chen C, Hu ZW, Xu YX, Zheng AY et al. Characteristics of cigarette smoking without alcohol consumption and laryngeal cancer: overall and time-risk relation. A meta-analysis of observational studies. *Eur Arch Otorhinolaryngol* 2017; 274(3): 1617-1631.
59. Cohen N, Fedewa S, Chen AY. Epidemiology and Demographics of the Head and Neck Cancer Population. *Oral Maxillofac Surg Clin North Am* 2018; 30(4): 381-395.
60. Lee YC, Boffetta P, Sturgis EM, Wei Q, Zhang ZF, Muscat J et al. Involuntary smoking and head and neck cancer risk: pooled analysis in the International Head and Neck Cancer Epidemiology Consortium. *Cancer Epidemiol Biomarkers Prev* 2008; 17(8): 1974-81.
61. Trigg DJ, Lait M, Wenig BL. Influence of tobacco and alcohol on the stage of laryngeal cancer at diagnosis. *Laryngoscope* 2000; 110(3):408-11.
62. Moller PK, Tolstrup JS, Olsen MH, Dalton SO, Overgaard J, Johansen J. Predictors of continuous tobacco smoking in a clinical cohort study of Danish laryngeal cancer patients smoking before treated with radiotherapy. *Acta Oncol* 2015; 54(5): 685-92.
63. Menvielle G, Luce D, Goldberg P, Bugel I, Leclerc A. Smoking, alcohol drinking and cancer risk for various sites of the larynx and hypopharynx. A case-control study in France. *Eur J Cancer Prev* 2004; 13(3): 165-72.
65. Hashibe M, Brennan P, Chuang SC, Boccia S, Castellsague X, Chen C et al. Interaction between tobacco and alcohol use and the risk of head and neck cancer: pooled analysis in the International Head and Neck Cancer Epidemiology Consortium. *Cancer Epidemiol Biomarkers Prev* 2009; 18(2): 541-50.
64. Hatcher JL, Sterba KR, Tooze JA, Day TA, Carpenter MJ, Alberg AJ et al. Tobacco use and surgical outcomes in patients with head and neck cancer. *Head Neck* 2016; 38(5): 700-6.
66. Auperin A, Hill C. Epidemiology of head and neck carcinomas. *Cancer Radiother* 2005; 9(1): 1-7.

67. Szymanska K, Hung RJ, Wunsch-Filho V, Eluf-Neto J, Curado MP, Koifman S et al. Alcohol and tobacco, and the risk of cancers of the upper aerodigestive tract in Latin America: a case-control study. *Cancer Causes Control* 2011; 22(7): 1037-46.
68. Altieri A, Garavello W, Bosetti C, Gallus S, La Vecchia C. Alcohol consumption and risk of laryngeal cancer. *Oral Oncol* 2005; 41(10): 956-65.
69. Kawakita D, Matsuo K. Alcohol and head and neck cancer. *Cancer metastasis Rev* 2017; 36(3): 425-434.
70. Lee WT, Hsiao JR, Ou CY, Huang CC, Ghang CC, Tsai ST et al. The Influence of Prediagnosis Alcohol Consumption and the Polymorphisms of Ethanol-Metabolizing Genes on the Survival of Head and Neck Cancer Patients. *Cancer Epidemiol Biomarkers Prev* 2019; 28(2): 248-257.
71. Giraldi L, Leoncini E, Pastorino R, Wunsch-Filho V, de Carvalho M, Lopez R et al. Alcohol and cigarette consumption predict mortality in patients with head and neck cancer: a pooled analysis within the International Head and Neck Cancer Epidemiology (INHANCE) Consortium. *Ann Oncol* 2017; 28(11): 2843-2851.
72. Eusebi LH, Ratnakumaran R, Yuan Y, Solaymani-Dodaran M, Bazzoli F, Ford AC. Global prevalence of, and risk factors for, gastro-oesophageal reflux symptoms: a meta-analysis. *Gut* 2018; 67(3): 430-440.
73. Ness-Jensen E, Hveem K, El-Serag H, Lagergen J. Lifestyle Intervention in Gastroesophageal Reflux Disease. *Clin Gastroenterol Hepatol* 2016; 14(2): 175-82.
74. Assimakopoulos D, Patrikakos G. The role of gastroesophageal reflux in the pathogenesis of laryngeal carcinoma. *Am J Otolaryngol* 2002; 23(6): 351-7.
75. Fellmann J, Weisert JU, Soltermann A, Morand G, Morra L, Moch H et al. Helicobacter pylori detected in pharyngeal and laryngeal pathologies in patients with proven gastric colonization. *Head Neck* 2011; 33(11): 1562-6.
76. Shimizu T, Marusawa H, Watanabe N, Chiba T. Molecular Pathogenesis of Helicobacter pylori-Related Gastric Cancer. *Gastroenterol Clin North Am* 2015; 44(3): 625-38.
77. Titiz A, Ozcakir O, Ceyhan S, Yilmaz YF, Unal A, Akyon Y. The presence of Helicobacter pylori in the larynx pathologies. *Auris Nasus Larynx* 2008; 35(4): 534-8.
78. Zhou J, Zhang D, Yang Y, Zhou L, Tao L. Association between helicobacter pylori infection and carcinoma of the larynx or pharynx. *Head Neck* 2016; 38(51): E2291-6.
79. Rezaii J, Tavakoli H, Esfandiari K, Ashegh H, Hasibi M, Ghanei G et al. Association between Helicobacter pylori infection and laryngo-hypopharyngeal carcinoma: a case-control study and review of the literature. *Head Neck* 2008; 30(12): 1624-7.
80. Quadeer MA, Colabianchi N, Strome M, Vaezi MF. Gastroesophageal reflux and laryngeal cancer: causation or association? A critical review. *Am J Otolaryngol* 2006; 27(2): 119-28.
81. Bacciu A, Mercante G, Ingegnoli A, Ferri T, Muzzetto P, Leandro G et al. Effects of gastroesophageal reflux disease in laryngeal carcinoma. *Clin Otolaryngol Allied Sci* 2004; 29(5): 545-8.
82. Coca-Pelaz A, Rodrigo JP, Takes RP, Silver CE, Paccagnella D, Rinaldo A et al. Relationship between reflux and laryngeal cancer. *Head Neck* 2013; 35(12): 1814-8.
83. Morrison MD. Is chronic gastroesophageal reflux a causative factor in glottic carcinoma? *Otolaryngol Head Neck Surg* 1988; 99(4): 370-3.
84. Ulrich CM. Nutrigenetics in cancer research - folate metabolism and colorectal cancer. *J. Nutr* 135: 2698-2702.

85. Bassett JK, Severi G, Hodge AM, Baglietto L, Hopper JL, English DR et al. Dietary intake of B vitamins and methionine and colorectal cancer risk. *Nutr Cancer* 2013; 65(5): 659-67.
86. Wang ZG, Cui W, Yang LF, Zhu YQ, Wei WH. Association of dietary intake of folate and MTHFR genotype with breast cancer risk. *Genet Mol Res* 2014; 13(3): 5446-51.
87. Pieroth R, Paver S, Day S, Lammersfeld C. Folate and Its Impact on Cancer Risk. *Curr Nutr Rep* 2018; 7(3): 70-84.
88. Qiang Y, Li Q, Xin Y, Fang X, Tian Y, Ma J et al. Intake of Dietary One-Carbon Metabolism-Related B Vitamins and the Risk of Esophageal Cancer: A Dose-Response Meta-Analysis. *Nutrients* 2018; 10(7): E835.
89. Kawakita D, Lee Ya, Gren LH, Buys SS, La Vecchia C, Hashibe M. The impact of folate intake on the risk of head and neck cancer in the prostate, lung, colorectal, and ovarian cancer screening trial (PLCO) cohort. *Br J Cancer* 2018; 118(2): 299-306.
90. Almadori G, Bussu F, Galli J, Cadoni G, Zappacosta B, Persichilli S et al. Serum folate and homocysteine levels in head and neck squamous cell carcinoma. *Cancer* 2002; 94(4): 1006-11.
91. Chang H, Ma M, Ma R, Zhang C, Zeng W, Xing LQ. Folate deficiency and aberrant expression of cell adhesion molecule 1 are potential indicators of prognosis in laryngeal squamous cell carcinoma. *Oncol Lett* 2016; 12(6): 4510-4514.
92. Nacci A, Dallan I, Bruschini L, Traino AC, Panicucci E, Bruschini P et al. Plasma homocysteine, folate, and vitamin B12 levels in patients with laryngeal cancer. *Arch Otolaryngol Head Neck Surg* 2008; 134(12): 1328-33.
93. Li XY, Guo X, Feng S, Li XT, Wei HQ, Yang HA et al. Relationship between a family history of malignancy and the incidence of laryngeal carcinoma in the Liaoning province of China. *Clin Otolaryngol* 2009; 34(2): 127-31.
94. Garavello W, Turati F, Bossetti C, Talamini R, Levi F, Lucenteforte E et al. Family history of cancer and the risk of laryngeal cancer: a case-control study from Italy and Switzerland. *Int J Cancer* 2012; 130(3): 665-70.
95. Huang YH, Lee YC, Li Q, Chen CJ, Hsu WL, Lou PJ et al. Family History of Cancer and Head and Neck Cancer Risk in a Chinese Population. *Asian Pacific Journal of Cancer Prevention* 2015; 16(17): 8003-8008.
96. Al-Otaibi SS, Al Zaher YN, Al Zaher NN, Khoja HA. Laryngeal carcinoma in a father and son. Possible familial risk? *Saudi Med J* 2018; 39(4): 424-425.
97. Katić V, Prgomet D, eds. Zloćudni tumori grkljana. Otorinolaringologija i kirurgija glave i vrata. Zagreb: Ljevak, 2009: str. 293-9, 302-5.
98. Jones TM, DE M, Foran B, Harrington K, Mortimore S. Laryngeal cancer: United Kingdom National Multidisciplinary guidelines. *J Laryngol Otol* 2016; 130(2): 75-82.
99. Mendenhall WM, Amdur RJ, Morris CG et al. T1-T2N0 squamous cell carcinoma of the glottic larynx treated with radiation therapy. *J Clin Oncol* 2001; 19(20): 4029-4036.
100. Zhang Q, Lai FY, Guo ZM, Zeng ZY, Song M, Yu WB et al. Correlation of cervical lymphatic metastasis to prognosis of glottic carcinoma: a report of 333 cases. *Ai Zheng* 2007; 26(10): 1138-42.
101. Tachibana T, Orita Y, Marunaka H, Makihara SI, Hirai M, Gion Y et al. Neck metastasis in patients with T1-2 supraglottic cancer. *Auris Nasus Larynx* 2018; 45(3): 540-545.

102. Hicks WL Jr, Kollmorgen DR, Kuriakose MA, et al. Patterns of nodal metastasis and surgical management of the neck in supraglottic laryngeal carcinoma. *Otolaryngol Head Neck Surg* 1999; 121(1): 57-61.
103. Ferlito A, Silver CE, Rinaldo A. Selective neck dissection (IIA, III): a rational replacement for complete functional neck dissection in patients with N0 supraglottic and glottic squamous carcinoma. *Laryngoscope* 2008; 118(4): 676-9.
104. Kaur K, Sonkhya N, Bapna AS. Nodal metastases from laryngeal carcinoma and their correlation with certain characteristics of the primary tumor. *Indian J Otolaryngol Head Neck Surg* 2002; 54(4): 255–263.
105. Puri SK, Fan CY, Hanna E. Significance of extracapsular lymph node metastases in patients with head and neck squamous cell carcinoma. *Curr Opin Otolaryngol Head Neck Surg* 2003; 11(2): 119-23.
106. de Juan J, Garcia J, Lopez M, Orus C, Esteller E, Quer M et al. Inclusion of extracapsular spread in the pTNM classification system: a proposal for patients with head and neck carcinoma. *JAMA Otolaryngol Head Neck Surg* 2013; 139(5): 483-8.
107. Garcia J, Lopez M, Lopez L, Bague S, Granell E, Quer M et al. Validation of the pathological classification of lymph node metastasis for head and neck tumors according to the 8th edition of the TNM Classification of Malignant Tumors. *Oral Oncol* 2017; 70: 29-33.
108. Calhoun KH, Fulmer P, Weiss R, Hokanson JA. Distant metastases from head and neck squamous cell carcinomas. *Laryngoscope* 1994; 104(10): 1199-205.
109. Spector JG, Sessions DG, Haughey BH, Chao KS, Simpson J, El Mofty S et al. Delayed regional metastases, distant metastases, and second primary malignancies in squamous cell carcinomas of the larynx and hypopharynx. *Laryngoscope* 2001; 111(6): 1079-87.
110. Traserra J, Arias C, Comas J, Sabater F, Cuchi A. Distant metastases originating from tumors of the larynx and hypopharynx. *Rev Laryngol Otol Rhinol (Bord)* 1989; 110(3): 267-71.
111. Yucel OT, Yilmaz T, Unal OF, Turan E. Distant metastases in laryngeal squamous cell carcinoma. *J Exp Clin Cancer Res* 1999; 18(3): 285-8.
112. Ferlito A, Shaha AR, Silver CE, Rinaldo A, Mondin V. Incidence and sites of distant metastases from head and neck cancer. *ORL J Otorhinolaryngol Relat Spec* 2001; 63(4): 202-7.
113. Pagedar NA, Jayawardena A, Charlton ME, Hoffman HT. Second Primary Lung Cancer After Head and Neck Cancer: Implications for Screening Computed Tomography. *Ann Otol Rhino Laryngol* 2015; 124(10): 765-9.
114. Cosetti M, Yu GP, Schantz SP. Five-year survival rates and time trends of laryngeal cancer in the US population. *Arch Otolaryngol Head Neck Surg* 2008; 134(4): 370-9.
115. Geelen CP, Hordijk GJ, Ravasz LA, Terhaard CH. Degree of tumour differentiation as a prognostic factor in advanced laryngeal cancer. *Acta Otorhinolaryngol Belg* 1995; 49(1): 1-4.
116. Liebig C, Ayala G, Wilks JA, Berger DH, Albo D. Perineural invasion in cancer: a review of the literature. *Cancer* 2009; 115(15): 3379-91.
117. Fagan JJ, Collins B, Barnes L, D'Amico F, Myers EN, Johnson JT. Perineural invasion in squamous cell carcinoma of the head and neck. *Arch Otolaryngol Head Neck Surg* 1998; 124(6): 637-40.

118. Lanzer M, Gander T, Kruse A, Luebbers HT, Reinisch S. Influence of histopathologic factors on pattern of metastasis in squamous cell carcinoma of the head and neck. *Laryngoscope* 2014; 124(5): 160-6.
119. Bova R, Goh R, Poulson M, Coman WB. Total pharyngolaryngectomy for squamous cell carcinoma of the hypopharynx: a review. *Laryngoscope* 2005; 115(5): 864-9.
120. Horwich P, Rigby MH, MacKay C, Melong J, Williams B, Bullock M et al. Laryngeal recurrence sites in patients previously treated with transoral laser microsurgery for squamous cell carcinoma. *J Otolaryngol Head Neck Surg* 2018; 47(1): 14.
121. Brandstorp-Boesen J, Sorum Falk R, Folkvard Evensen J, Boysen M, Brondbo K Risk of Recurrence in Laryngeal Cancer. *PLoS One* 2016; 11(10): e0164068.
122. Perez- Carro A, Garcia Caballero T, Lozano Ramirez A, Forteza Vila J, Labella Caballero YT. Epidermoid carcinoma of the larynx: anatomo-pathological results of 58 cases. *An Otorhinolaryngol Ibero Am* 2002; 29(5): 419-30.
123. Santos TS, Estevao R, Antunes L, Certal V, Silva JC, Monteiro E. Clinical and histopathological prognostic factors in locoregional advanced laryngeal cancer. *J Laryngol Otol* 2016; 130(10): 948-953.
124. Teppo H, Koivunen P, Sipila S, Jokinen K, Hyrynkangas, Lara E et al. Decreasing Incidence and Improved Survival of Laryngeal Cancer in Finland. *Acta Oncologica* 2001; 40(7): 791-795.
125. Megwalu UC, Panossian H. Survival Outcomes in Early Stage Laryngeal Cancer. *Anticancer Res* 2016; 36(6): 2903-7.
126. Brandstorp-Boesen J, Sorum Falk R, Boysen M, Brondbo K. Impact of stage, management and recurrence on survival rates in laryngeal cancer. *PLoS One* 2017; 12(7): e0179371.
127. Tian WD, Zeng ZY, Chen FJ, Wu GH, Guo ZM, Zhang Q. Treatment and prognosis of stage III-IV laryngeal squamous cell carcinoma. *Ai Zheng* 2006; 25(1): 80-4.
128. Layland MK, Sessions DG, Lenox J. The influence of lymph node metastasis in the treatment of squamous cell carcinoma of the oral cavity, oropharynx, larynx, and hypopharynx: N0 versus N+. *Laryngoscope* 2005; 115(4): 629-39.
129. Uloza V, Liutkevicius V, Pangonyte D, Lesauskaite V. Characteristics of expression of matrix metalloproteinases (MMP-2 and MMP-9) in glottic squamous cell carcinoma and benign vocal fold lesions. *Clin Exp Otorhinolaryngol* 2015; 8(1):57-64.
130. Peschos D, Damala C, Stefanou D, Tsanou E, Assimakopoulos D, Vougiouklakis T et al. Expression of matrix metalloproteinase-9 (gelatinase B) in benign, premalignant and malignant laryngeal lesions. *Histol Histopathol* 2006; 21(6): 603-8.
131. Sarioglu S, Ozer E, Kirimca F, Sis B, Pabuccuoglu U. Matrix metalloproteinase-2 expression in laryngeal preneoplastic and neoplastic lesions. *Pathol Res Pract* 2001; 197(7): 483-6.
132. Cao XL, Xu RJ, Zheng YY. Expression of type IV collagen, metalloproteinase-2, metalloproteinase-9 and tissue inhibitor of metalloproteinase-1 in laryngeal squamous cell carcinomas. *Asian Pac J Cancer Prev* 2011; 12(12): 3245-9.
133. Lotfi A, Mohammadi G, Saniee L, Mousaviagdas M, Chavoshi H, Tavassoli A. Serum level of matrix metalloproteinase-2 and -9 in patients with laryngeal squamous cell carcinoma and clinical significance. *Asian Pac J Cancer Prev* 2015; 16(4): 1327-30.
134. Liu WW, Zeng ZY, Wu QL, Hou JH, Chen YY. Overexpression of MMP-2 in laryngeal squamous cell carcinoma: a potential indicator for poor prognosis. *Otolaryngol Head Neck Surg* 2005; 132(3): 395-400.

135. Wael S, Manal S. Expression of nm23H1 and MMP2 in laryngeal carcinoma and its role in aggressiveness of the tumour and node metastasis. *Egypt J Otolaryngol* 2013; 29(2): 86-92.
136. Pastrnak A, Jansa P. Local eosinophilia in stroma of tumors related to prognosis. *Neoplasma* 1984; 31(3): 323-6.
137. Jain M, Kasetty S, Khan S, Jain NK. Tissue eosinophilia in head and neck squamous neoplasia: an update. *Exp Oncol* 2014; 36(3): 323-6.
138. Ercan I, Cakir B, Basak T, Ozdemir T, Sayin I, Turgut S. Prognostic significance of stromal eosinophilic infiltration in cancer of the larynx. *Otolaryngol Head Neck Surg* 2005; 132(6): 869-73.
139. Etit D, Yardim G, Arsanoglu S, Bayol U, Cukurova I, Ozturkcan S et al. Tumor-Associated Tissue Eosinophilia as a Prognostic Factor in Squamous Cell Carcinoma of the Larynx. *Indian J Otolaryngol Head Neck Surg* 2014; 66(1): 186-190.
140. Hoesli R, Birkeland AC, Rosko AJ, Issa M, Chow KL, Michmerhuizen NL. Proportion of CD4 and CD8 tumor infiltrating lymphocytes predicts survival in persistent/recurrent laryngeal squamous cell carcinoma. *Oral Oncol* 2018; 77: 83-89.
141. de Ruiter EJ, Ooft ML, Devriese LA, Willems SM. The prognostic role of tumor infiltrating T-lymphocytes in squamous cell carcinoma of the head and neck: A systematic review and meta-analysis. *Oncoimmunology* 2017; 6(11): e1356148.
142. Papadas TA, Naxakis SS, Mastronikolis NS, Stathas T, Karabekos NCh, Tsiambas E. Determination of matrix metalloproteinase 9 (MMP-9) protein expression in laryngeal squamous cell carcinomas based on digital image analysis. *J BUON* 2013; 18(4): 977-81.
143. Li X, Xu J, Yang X, Wu Y, Cheng B, Chen D et al. Association of single nucleotide polymorphisms of nucleotide excision repair genes with laryngeal cancer risk and interaction with cigarette smoking and alcohol drinking. *Tumour Biol* 2014; 35(5): 4659-65.
144. Abbasi R, Ramroth H, Becher H, Dietz A, Schmezer P, Popanda O. Laryngeal cancer risk associated with smoking and alcohol consumption is modified by genetic polymorphisms in ERCC5, ERCC6 and RAD23B but not by polymorphisms in five other nucleotide excision repair genes. *Int J Cancer* 2009; 125(6): 1431-9.
145. Zhu Y, Guo L, Wang S, Yu Q, Lu J. Association of Smoking and XPG, CYP1A1, OGG1, ERCC5, ERCC1, MMP2, and MMP9 Gene Polymorphisms with the early detection and occurrence of Laryngeal Squamous Carcinoma. *J Cancer* 2018; 9(6): 968–977.
146. Akdeniz O, Akduman D, Haksever M, Ozkarakas H, Muezzinoglu B. Relationships between clinical behavior of laryngeal squamous cell carcinomas and expression of VEGF, MMP-9 and E-cadherin. *Asian Pac J Cancer Prev* 2013; 14(9): 5301-10.
147. Yuce I, Bayram A, Cagli S, Canoz O, Bayram S, Guney E. The role of CD44 and matrix metalloproteinase-9 expression in predicting neck metastasis of supraglottic laryngeal carcinoma. *Am J Otolaryngol* 2011; 32(2): 141-6.
148. Liu RR, Li MD, Li T, Tan Y, Zhang M, Chen JC. Matrix metalloproteinase 2 (MMP2) protein expression and laryngeal cancer prognosis: a meta analysis. *Int J Clin Exp Med* 2015; 32(2): 141-6.
149. Pietruszewska W, Bojanowska-Pozniak K, Kobos J. Matrix metalloproteinases MMP1, MMP2, MMP9 and their tissue inhibitors TIMP1, TIMP2, TIMP3 in head and neck cancer: an immunohistochemical study. *Otolaryngol Pol* 2016; 70(3): 32-43.

150. Mallis A, Teymoortash A, Mastronikolis NS. MMP-2 expression in 102 patients with glottic laryngeal cancer. *Eur Arch Otorhinolaryngol* 2012; 269(2): 639-42.
151. Wittekindt C, Jovanovic N, Guntinas-Lichius O. Expression of matrix metalloproteinase-9 (MMP-9) and blood vessel density in laryngeal squamous cell carcinomas. *Acta Otolaryngol* 2011; 131(1): 101-6.
152. Colovic Z, Pesutić-Pisac V, Poljak NK, Racić G, Cikojević D, Kontić M. Expression of matrix metalloproteinase-9 in patients with squamous cell carcinoma of the larynx. *Coll Antropol* 2013; 37(1): 151-5.
153. Kalfert D, Ludvikova M, Topolcan O, Windrickova J, Malirova E, Pesta M, et al. Analysis of preoperative serum levels of MMP-1, -2, -9 in patients with site-specific head and neck squamous cell cancer. *Anticancer Res* 2014; 34(12): 7431-41.
154. Li JZ, Gao W, Lei WB, Zhao J, Chan JY, Wei WI, et al. MicroRNA 744-3p promotes MMP-9 mediated metastasis by simultaneously suppressing PDCD4 and PTEN in laryngeal squamous cell carcinoma. *Oncotarget* 2016; 7(36): 58218-23.
155. Popov TM, Stancheva G, Goranova TE, Rangachev J, Konov D, Todorov S, et al. Strong correlation between mRNA expression levels of HIF-2 α , VEGFR1, VEGFR2 and MMP2 in laryngeal carcinoma. *Pathol Oncol Res* 2016; 22(4): 741-6.

БИОГРАФИЈА

Др Дејан Рашић је рођен 16. јула 1970. у Београду, где је завршио основну и средњу школу. Дипломирао је на Медицинском факултету у Београду 1995. године, а као лекар започео професионалну каријеру у Гарнизонској амбуланти „Београд“ у Топчидеру. Специјализацију из оториноларингологије завршио је 2005. у Војномедицинској академији са одличним успехом. Ради на формацијском месту лекара у одељењу за риноларингологију Клинике за оториноларингологију Војномедицинске академије у Београду. Субспецијализацију из онкологије завршио је септембра 2020. године.

Усавршавање

Курс ендоскопске хирургије синуса, Београд, 2008.
Курс микроларингоскопске хирургије, Нови Сад, 2009.
Курс ултразвучне дијагностике болести врата, Београд, 2010.
Курс имплантације говорних протеза, Амстердам 2018.

Стручни радови

Учествовао на већем броју стручних скупова (конгреси, симпозијуми) у земљи и иностранству. Аутор и коаутор више стручних радова, објављени у домаћим и страним часописима.

Чланства

Орл секција српског лекарског друштва
Удружења ларинголога Србије
Српско удружење онколога главе и врата

ИЗЈАВА АУТОРА О ОРИГИНАЛНОСТИ ДОКТОРСКЕ ДИСЕРТАЦИЈЕ

Ја, Дејан Рашић, изјављујем да докторска

дисертација под насловом:

**ИСПИТИВАЊЕ ПРОГНОСТИЧКЕ ВРЕДНОСТИ ЕКСПРЕСИЈЕ
МЕТАЛОПРОТЕИНАЗА МАТРИКСА 2 И 9 КОД БОЛЕСНИКА СА
ПЛАНОЦЕЛУЛАРНИМ КАРЦИНОМОМ ГРКЉАНА**

која је одбрањена на Медицинском факултету
Универзитета у Крагујевцу представља *оригинално ауторско дело* настало као
резултат *сопственог истраживачког рада*.

Овом Изјавом такође потврђујем:

да сам *једини аутор* наведене докторске дисертације,

да у наведеној докторској дисертацији *нисам извршио/ла повреду* ауторског нити
другог права интелектуалне својине других лица,

да умножени примерак докторске дисертације у штампаној и електронској форми у
чијем се прилогу налази ова Изјава садржи докторску дисертацију истоветну
одбрањеној докторској дисертацији.

У Крагујевцу, 25.1.2021.године,

потпис аутора

ИЗЈАВА АУТОРА О ИСКОРИШЋАВАЊУ ДОКТОРСКЕ ДИСЕРТАЦИЈЕ

Ја, Дејан Рашић,

дозвољавам

не дозвољавам

Универзитетској библиотеци у Крагујевцу да начини два трајна умножена примерка у електронској форми докторске дисертације под насловом:

**ИСПИТИВАЊЕ ПРОГНОСТИЧКЕ ВРЕДНОСТИ ЕКСПРЕСИЈЕ
МЕТАЛОПРОТЕИНАЗА МАТРИКСА 2 И 9 КОД БОЛЕСНИКА СА
ПЛАНОЦЕЛУЛАРНИМ КАРЦИНОМОМ ГРКЉАНА**

која је одбрањена на Медицинском Факултету Универзитета у Крагујевцу, и то у целини, као и да по један примерак тако умножене докторске дисертације учини трајно доступним јавности путем дигиталног репозиторијума Универзитета у Крагујевцу и централног репозиторијума надлежног министарства, тако да припадници јавности могу начинити трајне умножене примерке у електронској форми наведене докторске дисертације путем *преузимања*.

Овом Изјавом такође

дозвољавам

не дозвољавам¹

¹ Уколико аутор изабере да не дозволи припадницима јавности да тако доступну докторску дисертацију користе под условима утврђеним једном од *Creative Commons* лиценци, то не искључује право припадника јавности да наведену докторску дисертацију користе у складу са одредбама Закона о ауторском и сродним правима.

припадницима јавности да тако доступну докторску дисертацију користе под условима утврђеним једном од следећих *Creative Commons* лиценци:

- 1) Ауторство
- 2) Ауторство - делити под истим условима
- 3) Ауторство - без прерада
- 4) Ауторство - некомерцијално
- 5) Ауторство - некомерцијално - делити под истим условима
- 6) Ауторство - некомерцијално - без прерада²

У Крагујевцу, 25.1.2021. године,

потпис аутора

² Молимо ауторе који су изабрали да дозволе припадницима јавности да тако доступну докторску дисертацију користе под условима утврђеним једном од *Creative Commons* лиценци да заокруже једну од понуђених лиценци. Детаљан садржај наведених лиценци доступан је на: <http://creativecommons.org/rs/>