

Примљено: 2. 2. 2024.		
Орг. јед.	Број	Прилог
		Образац 3

Jedodj

УНИВЕРЗИТЕТ У БАЊОЈ ЛУЦИ
ФАКУЛТЕТ: МЕДИЦИНСКИ ФАКУЛТЕТ



ИЗВЈЕШТАЈ
о оцјени урађене докторске дисертације

1. ПОДАЦИ О КОМИСИЈИ		
Орган који је именовео комисију:		
Датум именовања комисије: 14.12.2023.		
Број одлуке: 18/3. 980/23		
Чланови комисије:		
1. др Горан Марошевић	Ванредни професор	Онкологија и радиотерапија
Презиме и име	Звање	Научно поље и ужа научна област
Медицински факултет Универзитета у Бањој Луци		предсједник
Установа у којој је запослен-а		Функција у комисији
2. др Мирјана Ђук	Ванредни професор	Патологија
Презиме и име	Звање	Научно поље и ужа научна област
Медицински факултет Универзитета у Источном Сарајеву		члан
Установа у којој је запослен-а		Функција у комисији
3. др Саша Јунгић	Доцент	Онкологија и радиотерапија
Презиме и име	Звање	Научно поље и ужа научна област
Медицински факултет Универзитета у Бањој Луци		члан
Установа у којој је запослен-а		Функција у комисији
4. др Љиљана Амићић	Ванредни професор	Хумана генетика
Презиме и име	Звање	Научно поље и ужа научна област
Медицински факултет Универзитета у Бањој Луци		Резервни члан
Установа у којој је запослен-а		Функција у комисији
5.		
Презиме и име	Звање	Научно поље и ужа научна област

Установа у којој је запослен-а	Функција у комисији
--------------------------------	---------------------

2. ПОДАЦИ О СТУДЕНТУ

Име, име једног родитеља, презиме: Дејан (Милош) Ђокановић

Датум рођења: 03.04.1989.

Мјесто и држава рођења: Сребреница, Босна и Херцеговина

2.1. Студије првог циклуса или основне студије или интегрисане студије

Година уписа:	2008.	Година завршетка:	2014.	Просјечна оцјена током студија:	8.50
---------------	-------	-------------------	-------	---------------------------------	------

Универзитет: Универзитет у Бањој Луци

Факултет/и: Медицински факултет

Студијски програм: медицина

Стечено звање: доктор медицине

2.2. Студије другог циклуса или магистарске студије

Година уписа:		Година завршетка:		Просјечна оцјена током студија:	
---------------	--	-------------------	--	---------------------------------	--

Универзитет:

Факултет/и:

Студијски програм:

Назив завршног рада другог циклуса или магистарске тезе, датум одбране:

Ужа научна област завршног рада другог циклуса или магистарске тезе:

Стечено звање:

2.3. Студије трећег циклуса

Година уписа:	2016.	Број ECTS остварених до сада:	180	Просјечна оцјена током студија:	9,33
---------------	-------	-------------------------------	-----	---------------------------------	------

Факултет/и: Медицински факултет

Студијски програм: Биомедицинске науке

2.4. Приказ научних и стручних радова студента		
РБ	Подаци о референци	Категорија ¹
1.	Đokanović D, Gajanin R, Gojković Z, Marošević G, Sladojević I, Gajanin V, Jović-Đokanović O, Amidžić L. Clinicopathological Characteristics, Treatment Patterns, and Outcomes in Patients with Laryngeal Cancer. <i>Curr Oncol.</i> 2023 Apr 20;30(4):4289-4300. doi: 10.3390/curroncol30040327.	Web of science
2.	Đokanović D, Lazić B, Gojković Z, Cvijetić Ž, Sokolović E, Cerić T, Jungić S. Real-world treatment patterns and outcomes in patients with metastatic melanoma. <i>Srp Arh Celok Lek.</i> 2023 Mar-Apr;151(3-4):209-215. DOI: https://doi.org/10.2298/SARH220207006D	Web of science
Припадност рада ужој научној области којој припада предмет истраживања докторске дисертације		<u>ДА</u> НЕ

3. УВОДНИ ДИО ОЦЈЕНЕ ДОКТОРСКЕ ДИСЕРТАЦИЈЕ

- Наслов докторске дисертације** др мед. Дејана Ђокановића је „Прогностички значај морфолошких карактеристика и експресије p16INK4a, ФЛОТ2 и ЕГФР у сквамозном карциному орофаринкса и ларинкса“
- Научно поље** су медицинске науке, а ужа научна област је онкологија
- Тема докторске дисертације** „Прогностички значај морфолошких карактеристика и експресије p16INK4a, ФЛОТ2 и ЕГФР у сквамозном карциному орофаринкса и ларинкса“ **прихваћена је** од стране Научно-наставног вијећа Медицинског факултета Одлуком број: 18/3.312/2020 од 27.04.2020, а од стране Сената УНИБЛ Одлуком број: 02/04-3.1082-28/20 дана 28.05.2020.
- Сагласност** на Извјештај комисије за оцјену подобности студента, теме и ментора за израду докторске дисертације на Медицинском факултету за кандидата др мед. Дејана Ђокановића, добијена је од стране Научно-наставног вијећа Медицинског факултета Одлуком број: 18/3.312/2020 од 27.04.2020, а од стране Сената УНИБЛ Одлуком број: 02/04-3.1082-28/20 дана 28.05.2020.
- Садржај докторске дисертације:**
 Докторска дисертација др мед. Дејана Ђокановића написана је ћиричним писмом, фронт „Times New Roman“ величине 12 са проредом 1,5 на 177 страна, формата А4. У складу са методологијом писања докторске дисертације садржај је представљен у слиједећим поглављима:
 - На почетку докторске дисертације налази се првих 11 страна које нису нумерисане, а укључују наславну страну (српски и енглески језик), захвалница, сажетак на српском и енглеском језику и садржај дисертације.
 - Садржај урађене докторске дисертације садржи 10 поглавља:
 - Увод, написан на 39 страна;
 - Циљеви истраживања, написани на једној страни;
 - Хипотезе истраживања, написане на једној страни;
 - Материјал и методе рада, написани на седам страна;
 - Резултати истраживања, написани на 87 страна;
 - Дискусија, написана на девет страна;

¹ Категорија се односи на оне часописе и научне скупове који су категорисани у складу са Правилником о публикавању научних публикација („Службени гласник РС”, бр. 77/10) и Правилником о мјерилима за остваривање и финансирање Програма одржавања научних скупова („Службени гласник РС”, бр. 102/14) односно припадност рада часописима индексираним у свјетским цитатним базама.

7. Закључци, написани на двије стране;
 8. Литература, наведена на 28 страна;
 9. Прилози, са списком скраћеница наведеним на двије стране;
 10. Биографија, наведена на једној страни.
- Након докторске дисертације налазе се три стране које садрже:
1. Потписану Изјаву о ауторству (Изјава 1);
 2. Потписану Изјаву којом се овлашћује УНИБЛ да докторску дисертацију учини јавно доступном (Изјава 2);
 3. Потписану Изјаву о идентичности штампане и електронске верзије докторске дисертације (Изјава 3).
6. Докторска дисертација садржи 86 слика и 73 табеле. У попису кориштене литературе кориштена су 293 извора, која су цитирана по Ванкуверском стилу. Проучавани су радови који су значајни за тематику, пратећи најновија истраживања и смјернице из области дисертације.

4. УВОД И ПРЕГЛЕД ЛИТЕРАТУРЕ

1. Кратак опис разлога због којих су истраживања предузета, предмет, циљеви и хипотезе.

Разумијевање молекуларне основе повезане са настанком карцинома орофаринкса и ларинкса може утицати на рану дијагнозу, развој нових терапијских модалитета и утицати на прогнозу болести. Идентификацијом нових биомаркера ће се омогућити предвиђање прогресије, прогнозе тумора и развој нових циљаних терапијских модалитета.

Циљеви истраживања су: 1. Утврдити стандардне прогностичке параметре (хируршка процедура која је коришћена у лијечењу, величина тумора, хистолошки тип тумора, хистолошки градус тумора, дубина инвазије строме, начин раста, маргине, инвазија лимфних судова, инвазија крвних судова, перинеурална и интранеурална инвазија, статус лимфних чворова) и примарни патолошки стадијум болести у карциному орофаринкса и ларинкса. 2. Утврдити степен експресије рецептора фактора раста (ЕГФР, ФЛОТ-2) и p16INK4a у карциному орофаринкса и ларинкса. 3. Утврдити корелацију између стандардних патохистолошких прогностичких параметара за карцином орофаринкса и ларинкса и степена експресије рецептора фактора раста. 4. Утврдити који од стандардних патолошких прогностичких параметра и експресија фактора раста утичу на појаву рецидива болести и дужину преживљавања пацијената са карциномом орофаринкса и ларинкса.

Хипотезе истраживања: 1. Пацијенти са карциномом орофаринкса и ларинкса који имају високу експресију p16INK4a и ЕГФР имају бољи одговор на онколошки третман и дуже вријеме до појаве рецидива и прогресије болести, а пацијенти са повишеном експресијом ФЛОТ2 имају лошији одговор на третман и краће преживљавање. 2. Карцином ларинкса има мању експресију горе наведених фактора раста, а настанак тог карцинома је више повезан са факторима ризика као што су конзумација дувана и алкохола.

3. Пацијенти са факторима ризика као што је пушење и претјерана конзумација алкохола имају лошији одговор на онколошки третман и краће вријеме до појаве релапса болести, а прогноза болести код пацијента у великој мјери зависи од примарног патолошког стадијума болести.

2. Преглед литературе и сажети приказ резултата претходних истраживања.

Карцином сквамозних ћелија главе и врата ICD 10. ревизија C00-C10, C12-C14, C32 (1) један је од десет најчешћих карцинома у свијету, са око 750 000 новодијагностикованих случајева у свијету и 150 000 у Европи (2). Више од 90% малигнитета главе и врата чине карциноми сквамозних ћелија. Тумори главе и врата углавном настају у слузокожама главе и врата. Најчешће се јавља на ларинксу, ждријелу и усној шупљини. Познато је да стална изложеност дувану, дуванским производима и алкохолу повећава ризик од развијања ових тумора (3). Током прошле деценије дошло је до промјене у примарном мјесту настанка овог карцинома - повећан је број сквамозних орофарингеалних карцинома (ОПЦ), док је појава карцинома ларинкса и хипофаринкса у опадању. Ова промјена посматра се паралелно са смањењем пушења али и изложености високоризичном онкогеном хуманом папиломавирусу (ХПВ) као једном од ризичних фактора за развој ОПЦ -а (4,5). Учесталост ХПВ позитивног ОПЦ -а у САД-у повећала се за 225% између 1988. и 2004., док се учесталост ХПВ негативног ОПЦ смањила за 50% (6). У Сјеверној Америци 56% ОПЦ су ХПВ позитивни (6), у Јапану 52%, 45% у Аустралији, 39% у сјеверној и западној Европи, а 13% у остатку свијета (7,8). Пацијенти са ХПВ позитивним ОПЦ -ом су најчешће средовјечни бијелци који су при томе непушачи, вишег социоекономског статуса, који су имали више сексуалних партнера (9). Ови пацијенти могу имати ранију изложеност пушењу, али већина нису активни пушачи. Штавише, прогноза за пацијенте са

дијагностикованим HPV позитивним ОПЦ је знатно боља него код пацијената са ХПВ негативним карциномом чији настанак се доводи у везу са дуваном (10). Ово одступање од класичног пацијента који је у седмој деценији са историјом конзумирања дувана и алкохола је драматично измијенила правце истраживања.

Генерално, пацијенти из групе са HPV позитивним ОПЦ -ом су чешће мушкарци и релативно млађи него пацијенти из групе ХПВ негативних (11-14). Они имају боље свеукупно опште стање и најчешће нису пушачи нити имају историју злоупотребе алкохола (15, 16-18). Иако се ХПВ позитивни ОПЦ обично дијагностикују у већ узнапредовалом стадијуму са више местастаза на цервикалним лимфним чворовима, они и даље имају бољу прогнозу него ХПВ негативни ОПЦ (10, 11, 19, 20). Ово може бити због повећане сензитивности на дејство радиотерапије (РТ), повољних биолошких карактеристика тумора, као и бољег свеукупног стања пацијента (16, 19).

Стога се ХПВ статус рутински анализира код OPSCC најчешће проводећи p16INK4a (ш16) имуно-маркирање на туморско ткиво. p16 тумор-супресорски протеин који је претјерано експримиран код карцинома изазваних ХПВ-ом, је познати сурогат маркер за ХПВ статус. ОПЦ који показују високу експресију ш16 се често сматрају ХПВ позитивним, али p16 имуно-маркирање даје лажно позитивне резултате у 5%-20% случајева (18, 21-26). Неколико студија се бавило истраживањем односа између ХПВ статуса и исхода код нон-орофарингеалних локализација (27), али још увијек нису убједљиво доказале везу између ХПВ статуса и исхода болести (28-32). До данас, најопширнија студија која се бавила везом између ХПВ статуса и исхода код ларингеалних карцинома укључивала је само 130 пацијената и није показала значајну повезаност (29).

Више различитих приступа се тренутно користе код идентификовања тумора главе и врата изазваних ХПВ-ом. Циљ свих ових приступа мора бити откривање биолошки значајне, тј. трансформирајуће, ХПВ инфекције. Детекција транскрипта ХПВ онкогена E6/E7 у овом контексту се тренутно сматра „златним стандардом“, јер карциноми покренути ХПВ-ом зависе од канцерогеног дјеловања HPV E6 и E7 онкогена (22, 33). HPV E7 онкогена сигнализација узрокује прекомјерну експресију ћелијског протеина p16INK4a у ХПВ-трансформисаним ћелијама (34).

Рецептор за епидермални фактор раста (EGFR) је трансмембрански рецептор тирозин киназе који припада HER/erbB породици и високо је експримиран у туморима главе и врата, и до 90% (35). Висок број копија EGFR гена је забиљежен у 10%-58% тумора главе и врата (36-39). Код ових тумора, за разлику од карцинома плућа, активирајуће EGFR мутације су ријетке. Прекомјерна експресија EGFR као и висок број копија тих гена су повезане са слабом прогнозом и радиорезистенцијом (36-44). EGFR је релевантна мета код тумора главе и врата открићем цетуксимаба, имуноглобин Г1 (IgG1) моноклоналног антијела које напада EGFR, те побољшава свеукупну стопу преживљавања када се комбинује са РТ или хемиотерапијом (ХТ) (45,46). Ипак, само мали број пацијената ће имати корист од анти- EGFR моноклоналних антијела, а објективна стопа одговора монотерапије износи 6-13% (47,48).

Флотилин протеине је прво открио Шулта и колеге код златних рибица након повреде оптичког нерва. Током процеса регенерације аксона, два протеина reggie1 и reggie2 су били нарочито експримирани у ретиналним ганглијским ћелијама (49). Шредер и колеге су изоловали и описали комплементарну ДНК, која кодира нову ванћелијску епидермалну молекулу - епидермални површински антиген (ESA) за који се сматра да има важну улогу у међућелијској епидермалној адхезији. ESA информациона РНК је експримирана у ћелијским линијама кератиноцита, меланоцита, фибробласта, карциномима и у ћелијским линијама меланома. ESA ген је очуван код сисара и локализован је на људском хромозому 17 (M17C1) у истој регији као и ген за фон Реклингхаусенову неурофиброматозу (50). Приликом скрининга нових мембранских маркера Бикел и колеге су издвојили протеин из екстраката мембране плућног ткива код мишева, који је према својим особинама назван „флотилин“. Флотилин је близак хомолог ESA-е, а заједно дефинишу нову породицу интегралних мембранских протеина. Предложено је да се флотилин означава са flotillin1, а ESA као flotillin2. Анализа секвенце је накнадно показала да су секвенце flotillin2 и reggie1 идентичне, као и секвенце flotillin1 и reggie2. Флотилин (ФЛОТ2) је данас прихваћен као званично име за оба гена (51). Прекомјерна експресија ФЛОТ2 се открива код неколико типова хуманих канцера и везује са слабијим преживљавањем. На примјер, прекомјерна експресија ФЛОТ2 се повезује са прогресијом болести код меланома и склоношћу метастазирања у лимфне чворове (52, 53); прекомјерна експресија ФЛОТ2 може се такође открити у метастатским ћелијама назофарингеалног карцинома (54); код пацијената са назофарингеалним карциномом са метастазама у лимфне чворове експресија ФЛОТ2 значајно је виша него код оних без датих метастаза (55). Такође, прекомјерна експресија ФЛОТ2 протеина се везује за слабу стопу преживљавања код пацијената са солидним туморима, а ове студије дају базу за разматрање ФЛОТ2 као потенцијалног прогностичког маркера (56, 57). Иако је ФЛОТ2 познат већ деценијама, његов потенцијални клинички значај код ОПЦ-а је углавном непознат, али скорија истраживања показују да би он могао бити

прогностички маркер за ОПЦ (58).

Литература.

1. Barnes L, Eveson JW, Reichart P, Sidransky D., World Health Organization Classification of Tumours. Pathology and Genetics of Head and Neck Tumours, 2005 Lyon IARC Press.
2. Preuzeto sa web stranice (<https://gco.iarc.fr>).
3. Marur S., Forastiere A.A. Head and neck cancer: Changing epidemiology, diagnosis, and treatment. (2008) Mayo Clinic Proceedings, 83 (4) , pp. 489-501.
4. Sturgis EM, Cinciripini PM. Trends in head and neck cancer incidence in relation to smoking prevalence: an emerging epidemic of human papillomavirus-associated cancers? Cancer. 2007; 110(7):1429-1435.
5. Gillison ML, Broutian T, Pickard RK, et al. Prevalence of oral HPV infection in the United States, 2009-2010. JAMA. 2012; 307(7):693-703.
6. Chaturvedi AK, Engels EA, Pfeiffer RM, et al. Human papillomavirus and rising oropharyngeal cancer incidence in the United States. J Clin Oncol. 2011;29(32):4294-4301.
7. Gillison ML, Castellsagué X, Chaturvedi A, et al. EUROGIN roadmap: comparative epidemiology of HPV infection and associated cancers of the head and neck and cervix. Int J Cancer. 2014;134(3):497-507.
8. Chaturvedi AK, Anderson WF, Lortet-Tieulent J, et al. Worldwide trends in incidence rates for oral cavity and oropharyngeal cancers. J Clin Oncol. 2013;31(36):4550-4559.
9. D'Souza G, Kreimer AR, Viscidi R, et al. Case-control study of human papillomavirus and oropharyngeal cancer. N Engl J Med. 2007;356(19):1944-1956.
10. Fakhry C, Westra WH, Li S, et al. Improved survival of patients with human papillomavirus-positive head and neck squamous cell carcinoma in a prospective clinical trial. J Natl Cancer Inst. 2008;100(4):261-269.
11. Chaturvedi AK, Engels EA, Anderson WF, Gillison ML. Incidence trends for human papillomavirus-related and -unrelated oral squamous cell carcinomas in the United States. J Clin Oncol 2008; 26 (4): 612-619.
12. Castellsague X, Alemany L, Quer M et al. HPV involvement in head and neck cancers: comprehensive assessment of biomarkers in 3680 patients. J Natl Cancer Inst 2016; 108: djv403.
13. Gillison ML. Current topics in the epidemiology of oral cavity and oropharyngeal cancers. Head Neck 2007; 29: 779-792.
14. Chaturvedi AK, Graubard BI, Broutian T et al. NHANES 2009-2012 findings: association of sexual behaviors with higher prevalence of oral oncogenic human papillomavirus infections in U.S. men. Cancer Res 2015; 75(12): 2468-2477.
15. Gillison ML, Koch WM, Capone RB, Spafford M, Westra WH, Wu L, et al. Evidence for a causal association between human papillomavirus and a subset of head and neck cancers. J Natl Cancer Inst. 2000;92: 709-20.
16. Lindel K, Beer KT, Laissue J et al. Human papillomavirus positive squamous cell carcinoma of the oropharynx: a radiosensitive subgroup of head and neck carcinoma. Cancer 2001; 92(4),: 8025-813.
17. Rietbergen MM, Leemans CR, Bloemena E et al. Increasing prevalence rates of HPV attributable oropharyngeal squamous cell carcinomas in the Netherlands as assessed by a validated test algorithm. Int J cancer 2013; 24(7): 1565-1671.
18. Rietbergen MM, Brakenhoff RH, Bloemena E et al. Human papillomavirus detection and comorbidity: critical issues in selection of patients with oropharyngeal cancer for treatment De-escalation trials. Ann Oncol.2013; 24(11): 2740-2745.
19. Ang KK, Harris J, Wheeler R, Weber R, Rosenthal DI, Nguyen-Tan PF, et al. Human papillomavirus and survival of patients with oropharyngeal cancer. N Engl J Med. 2010;363: 24-35.
20. Horne ZD, Glaser SM, Vargo JA et al. Confirmation of proposed human papillomavirus risk-adapted staging according to AJCC/UICC TNM criteria for positive oropharyngeal carcinomas. Cancer 2016; 122: 2021-2030.
21. Lewis JS. Jr, p16 Immunohistochemistry as a standalone test for risk stratification in oropharyngeal squamous cell carcinoma. Head Neck Pathol 2012; 6(suppl 1): S75-S82.
22. Smeets SJ, Hesselting AT, Speel EJ et al. A novel algorithm for reliable detection of human papillomavirus in paraffin embedded head and neck cancer specimen. Int J cancer 2007; 121(11): 2465-2472.
23. Robinson M, Schache A, Sloan P, Tharavaj S. HPV specific testing: a requirement for oropharyngeal squamous cell carcinoma patients. Head and Neck Pathol 2012; 6(Suppl 1): 83-90.
24. Wasylyk B, Abecassis J, Jung AC. Identification of clinically relevant HPV-related HNSCC: in p16 should we trust? Oral Oncol 2013; 49: e33-e37.
25. Ukpo OC, Flanagan JJ, Ma XJ et al. High risk human papillomavirus E6/E7 mRNA in situ hybridization assay strongly correlates with p16 expression and patient outcomes in oropharyngeal squamous cell carcinoma. Am J Surg Pathol 2011; 35(9): 1343-1350.
26. Bishop JA, Ma XJ, Wang H et al. Detection of transcriptionally active high-risk HPV in patients with head

and neck squamous cell carcinoma as visualized by a novel E6/E7 mRNA in situ hybridization method. *Am J Surg Pathol* 2012; 36(12): 1874-1882.

27. Isayeva T, Li Y, Maswahu D, Brandwein-Gensler M. Human papillomavirus in non-oropharyngeal head and neck cancers: a systematic literature review. *Head Neck Pathol*. 2012 Jul; 6 Suppl 1():S104-20.
28. Vlachtsis K, Nikolaou A, Markou K, Fountzilias G, Daniilidis I. Clinical and molecular prognostic factors in operable laryngeal cancer. *Eur Arch Otorhinolaryngol*. 2005 Nov; 262(11):890-8.
29. Morshed K. Association between human papillomavirus infection and laryngeal squamous cell carcinoma. *J Med Virol*. 2010 May; 82(6):1017-23.
30. Duray A, Descamps G, Arafa M, Decaestecker C et al. High incidence of high-risk HPV in benign and malignant lesions of the larynx. *Int J Oncol*. 2011 Jul; 39(1):51-9.
31. Stephen JK, Chen KM, Shah V, et al. Human papillomavirus outcomes in an access-to-care laryngeal cancer cohort. *Otolaryngol Head Neck Surg*. 2012 May; 146(5):730-8.
32. Chernock RD, Wang X, Gao G, et al. Detection and significance of human papillomavirus, CDKN2A(p16) and CDKN1A(p21) expression in squamous cell carcinoma of the larynx. *Mod Pathol*. 2013 Feb; 26(2):223-31.
33. von Knebel Doeberitz M. The causal role of human papillomavirus infections in non-anogenital cancers. It's time to ask for the functional evidence. *Int J Cancer* 2016;139:9-11.
34. McLaughlin-Drubin ME, Crum CP, Munger K. Human papillomavirus E7 oncoprotein induces KDM6A and KDM6B histone demethylase expression and causes epigenetic reprogramming. *Proc Natl Acad Sci U S A* 2011;108:2130-5.
35. Kalyankrishna S, Grandis JR. Epidermal growth factor biology in head and neck cancer. *J Clin Oncol*. 2006;24:2666-72.
36. Temam S, Kawaguchi H, El-Naggar AK, et al. Epidermal growth factor receptor copy number alterations correlate with poor clinical outcome in patients with head and neck squamous cancer. *J Clin Oncol*. 2007;25:2164-70.
37. Mrhalova M, Plzak J, Betka J, Kodet R. Epidermal growth factor receptor-its expression and copy numbers of EGFR gene in patients with head and neck squamous cell carcinoma. *Neoplasma*. 2005;52:338-43.
38. Chung CH, Ely K, McGavran L, et al. Increased epidermal growth factor receptor gene copy number is associated with poor prognosis in head and neck squamous cell carcinomas. *J Clin Oncol*. 2006;24:4170-76.
39. Chiang WF, Liu SY, Yen CY, et al. Association of epidermal growth factor receptor (EGFR) gene copy number amplification with neck lymph node metastasis in areca-associated oral carcinoma. *Oral Oncol*. 2008;44:270-6.
40. Ang KK, Berkey BA, Tu X, et al. Impact of epidermal growth factor receptor expression on survival and pattern of relapse in patients with advanced head and neck carcinoma. *Cancer Res*. 2002;62:7350-56.
41. Wheeler S, Siwak DR, Chai R, et al. Tumor epidermal growth factor receptor and EGFR PY1068 are independent prognostic indicators for head and neck squamous cell carcinoma. *Clin Cancer Research*. 2012;18:2278-89.
42. Rubin Grandis JR, Melhem MF, Gooding WE, et al. Levels of TGFA and EGFR protein in head and neck squamous cell carcinoma and patient survival. *J Natl Cancer Inst*. 1998;90:824-32.
43. Jedlinski A, Ansell A, Johansson AC, Roberg KJ. EGFR status and EGFR ligand expression influence the treatment response of head and neck cancer cell lines. *Oral Pathol Med*. 2013;42:26-36.
44. Bentzen SM, Atasoy BM, Daley FM, et al. Epidermal growth factor receptor expression in pretreatment biopsies from head and neck squamous cell carcinoma as a predictive factor for a benefit from accelerated radiation therapy in a randomized controlled trial. *J Clin Oncol*. 2005;23:5560-67.
45. Vermorken J, Mesia R, Rivera F, et al. Platinum-based chemotherapy plus cetuximab in head and neck cancer. *N Eng J Med*. 2008;11:1116-27.
46. Bonner JA, Harari PM, Giralt J, et al. Radiotherapy plus cetuximab for locoregionally advanced head and neck cancer: 5-year survival data from a phase 3 randomised trial, and relation between cetuximab-induced rash and survival. *Lancet Oncol*. 2010;11:21-8.
47. Machiels JP, Subramanian S, Ruzsa A, et al. Zalutumumab in patients with squamous cell carcinoma of the head and neck with recurrent or metastatic disease who failed platinum based chemotherapy, a randomized controlled trial. *Lancet Oncol*. 2011;12:333-343.
48. Vermorken JB, Herbst RS, Leon X, Amellal N, Baselga J. Overview of the efficacy of cetuximab in recurrent and/or metastatic squamous cell carcinoma of the head and neck in patients who previously failed platinum-based therapies. *Cancer*. 2008;112:2710-9.
49. Schulte T, Paschke KA, Laessing U, et al. Reggie-1 and reggie-2, two cell surface proteins expressed by retinal ganglion cells during axon regeneration. *Development*. 1997;124(2):577-587.
50. Schroeder WT, Stewart-Galetka S, Mandavilli S, et al. Cloning and characterization of a novel epidermal cell surface antigen (ESA) *J Biol Chem*. 1994;269(31):19983-19991.

51. Bickel PE, Scherer PE, Schnitzer JE, et al. Flotillin and epidermal surface antigen define a new family of caveolae-associated integral membrane proteins. *J Biol Chem.* 1997;272(21):13793–13802.
52. Hazarika P, McCarty MF, Prieto VG, et al. Up-regulation of Flotillin-2 is associated with melanoma progression and modulates expression of the thrombin receptor protease activated receptor 1. *Cancer Res.* 2004;64:7361–7369.
53. Doherty SD, Prieto VG, George S, et al. High flotillin-2 expression is associated with lymph node metastasis and Breslow depth in melanoma. *Melanoma Res.* 2006;16:461–463.
54. Yang XY, Ren CP, Wang L, et al. Identification of differentially expressed genes in metastatic and non-metastatic nasopharyngeal carcinoma cells by suppression subtractive hybridization. *Cell Oncol.* 2005;27:215–223.
55. Wen Q, Li J, Wang W, Xie G, Xu L, Luo J, Chu S, She L, Li D, Huang D, Fan S. Increased expression of flotillin-2 protein as a novel biomarker for lymph node metastasis in nasopharyngeal carcinoma. *PLoS One.* 2014;9:e101676.
56. Wang X, Yang Q, Guo L, et al. Flotillin-2 is associated with breast cancer progression and poor survival outcomes. *J Transl Med.* 2013;11:190.
57. Zhu Z, Wang J, Sun Z, et al. Flotillin2 expression correlates with HER2 levels and poor prognosis in gastric cancer. *PLoS One.* 2013;8:e62365.
58. Wen Q, Alnemah MM, Luo J, et al. FLOT-2 is an independent prognostic marker in oral squamous cell carcinoma. *International Journal of Clinical and Experimental Pathology.* 2015;8(7):8236-8243.

3. Допринос тезе у рјешавању изучаваног предмета истраживања.

Бољи квалитет лијечења и превенција су трајни ефекти, јер идентификација одређених прогностичких параметара омогућава боље планирање лијечења. Резултати овог истраживања ће допринјети унапријеђењу клиничке праксе, стручној едукацији и дати допринос будућим научним студијама из области онкологије тумора главе и врата. До сада ова тема се није истраживала у нашој земљи, а експресија ФЛОТ2 код ових карцинома није довољно истражена ни у међународним научним круговима, те би добијени резултати могли наћи своју примјену. Добробит резултата пројекта могу значајно допринјети промоцији политике јавног здравља и имаће дугорочни значај кроз бројне и различите методолошке приступе: програм увођења програма континуиране медицинске едукације и специјално дизајнираних клиничких водича, програми превенције, кампање социјалног маркетинга у сврху унапријеђења знања, јачања индивидуалних одговорности и социјалних интеракција, едукације о ризичним понашањима, као и штампање тематског промотивног материјала.

4. Очекивани научни и практични допринос дисертације.

Резултати тезе ће дати допринос не само научној заједници, него ће негов највећи значај бити у квалитетнијем и прецизнијем дијагностичком и терапијском приступу код пацијената обољелих од карцинома орофаринкса и ларинкса. Такође резултати тезе ће имати значај у свакодневној клиничкој пракси јер ћемо овим истраживањем прецизније разумјети молекуларни ниво развоја ових карцинома, како бисмо што ефикасније и поузданије утврдили дијагнозу болести, те предвидјели даљи ток.

На тај начин бисмо били у могућности да адекватном дијагностиком и терапијом карцинома орофаринкса и ларинкса, значајно утичемо на квалитет живота обољелих пацијената, те да смањимо рецидив обољења и смртност на најнижи могући ниво.

Идентификацијом нових биомаркера ће се омогућити предвиђање прогресије, прогнозе тумора и развој нових циљаних терапијских метода у лијечењу карцинома орофаринкса и ларинкса. Резултати овог истраживања ће утврдити прогностички значај експресије рецептора фактора раста (ФЛОТ-2, p16INK4a и ЕГФР), повезаност степена експресије са другим морфолошким параметрима у карциному орофаринкса и ларинкса, током и исходом болести.

Очекује се да ће резултати овог истраживања дати значајан научни допринос у даљим истраживањима у подручју савремене медицине која су базирана на изучавању патогенетских молекуларних карактеристика тумора и проналажењу нових “циљаних” лијекова који би везивањем за специфичне антигене на површини (рецептори фактора раста) хелије довели до заустављања процеса прогресије болести, посебно употребом комбинације више лијекова. Овако модулисана терапија би омогућила инактивацију већег броја сигналних путева са већом вјероватноћом заустављања прогресије тумора.

5. МАТЕРИЈАЛ И МЕТОДОЛОГИЈА РАДА

1. Карактеристике материјала који је обрађиван, критеријуме који су узети у обзир за избор материјала.

Истраживање је спроведено у Универзитетском клиничком центру Републике Српске (УКЦ РС), у периоду од 2014. године до краја 2020. године. Протокол истраживања је одобрен од стране Етичког одбора УКЦ РС и Етичког одбора Медицинског факултета Универзитета у Бањој Луци. У истраживање је укључено укупно 149 пацијената са карциномом орофаринкса и ларинкса.

Пацијенти су укључени у студију сходно укључујућим критеријумима, без обзира на полну и старосну дистрибуцију. Такође, укључени пацијенти су лијечени стандардним протоколима лијечења по важећим смјерницама сходно стадијуму болести, стању пацијента и другим параметрима. Ти протоколи подразумјевају хируршко лијечење, РТ и ХТ, те различите комбинације наведених модалитета лијечења.

Критеријуми укључивања у студију: 1) пацијенти обољели од карцинома орофаринкса и ларинкса, 2) да је дијагноза сквамозног карцинома орофаринкса и ларинкса патохистолошки верификована након хируршког оперативног третмана или биопсије примарног тумора, 3) да постоје подаци о току и исходу болести код ових пацијената у периоду од најмање три године.

Критеријуми неукључивања: 1) пацијенти који у лијечењу карцинома орофаринкса и ларинкса нису хируршки третирани (оперативно и/или биопсија), 2) присуство удаљених метастаза, 3) пацијенти за које немамо репрезентативне узорке за хистолошку и имунохистохемијску анализу, 4) недостатак података везаних за ток и исход болести. Дизајн истраживања је дијелом ретроспективна, а дијелом проспективна аналитичка студија.

2. Кратак увид у примијењени метод истраживања.

Праћење болесника, ток и исход лијечења, дужина преживљавања или узрок смрти утврђени су на основу медицинске документације или података добијених интервјуом са пацијентом или његовом породицом. Такође, прикупљени су и подаци о изложености пушењу и алкохолу.

Пацијенти су на основу тока и исхода болести подијељени у двије групе: Група I - пацијенти са повољним исходом болести: 1. у току периода праћења живи, 2. без рецидива болести унутар 24 мјесеца од почетка праћења; Група II - пацијенти са неповољним исходом болести: 1. живи, са релапсом болести унутар 24 мјесеца од почетка праћења, 2. пацијенти умрли унутар 24 мјесеца од почетка праћења.

Подаци о старости као и подаци о макроскопским карактеристикама тумора (локализација тумора, макроскопски тип раста тумора и други подаци) су преузети из патохистолошких налаза уложених у регистре пацијената. У Заводу за патологију УКЦ РС су за сваког пацијента укљученог у ову анализу из парафинске архиве извађена стакалца са туморским материјалом. Туморско ткиво је добијено хируршким ресекцијом или биопсијом и за потребе дијагностике фиксирано у формалину, укалупљено у парафину, сјечено на танке пресеке који су бојени методом хематоксилин - еозин (ХЕ). Након прегледа, одабрана су најрепрезентативнија ХЕ сатакалца, са највише туморске масе. Сваком од њих је пронађен и њему припадајући парафински калуп (истог садржаја туморског материјала) који је кориштен за имунохистохемијско бојење (ИХХ). Одабрани парафински калупи су додатно сјечени на три пресека. Један пресјек је кориштен за имунолошку детекцију ФЛОТ2, други за имунолошку детекцију ЕГФР, а трећи за детекцију протеина p16INK4A у туморском ткиву сваког пацијента. Имунохистохемијска анализа је вршена свјетлосном микроскопском на микроскопу марке Leica DM2500, квалитативном и семиквантитативном анализом. Патохистолошку анализу и ИХХ анализу свих узорака радио је један патолог. За одређивање степена ИХХ експресије коришћен је семиквантитативни систем оцјењивања који је укључивао интензитет имунобојења и проценат ћелија које су имале сигурну позитивну имуноколорацију (реакцију). Анализа ИХХ бојења за сваки биомаркер је детаљно објашњења у поглављу материјал и методе.

Добијени подаци су обрађени према основним дескриптивним статистичким методама: средња вриједност, стандардна девијација и медијана, за нумеричка обиљежја. За обиљежја дисконтинуиране природе је коришћена учесталост и градација позитивности по аналогној скали. Разлике између група по анализираним варијаблама су тестиране параметарском аналитичком статистичком методом- Студентовим т тестом за независне узорке. За непараметријска обиљежја и процјену утицаја варијабли на прогресију болести, примјењиване су аналитичке методе за процјену значајности разлике: Персонов χ^2 тест и Фишеров тест тачне вјероватноће. Испитивање вјероватноће преживљавања и утицаја појединих варијабли на преживљавање болесника је рачунато према Каплан-Маиеоровом алгоритму. За униваријантно поређење кривих преживљавања између појединих група и категорија анализираних варијабли коришћен је χ^2 тест и Лог-ранк тест. Мултиваријантна анализа у неколико изабраних модела је урађена примјеном Сох-овог модела пропорционалних хазарда. Сви подаци су унијети у табеле и приказани графички.

У случају кад је вјероватноћа да је нулта хипотеза тачна једнака или мања од 5% ($p \leq 0,05$) разлика између анализираних група је прихваћена као статистички значајна.

Комисија констатује да су промјењене методе истраживања адекватне, довољно тачне и савремене. Докторска дисертација у потпуности одговара предложеној теми и садржају- У дисертацији нису идентификоване промјене у погледу методологије, одобрених и постављених циљева и хипотеза у односу на пријаву докторске тезе. Комисија констатује да је статистичка обрада података адекватно спроведена.

3. РЕЗУЛТАТИ И НАУЧНИ ДОПРИНОС ИСТРАЖИВАЊА

1. Укратко резултати истраживања.

У петом поглављу представљени су резултати истраживања (стр. 49-136). Добијени резултати су анализирани у шестом поглављу Дискусија (стр.136-145), која је јасно и прегледно описана како је методологијом истраживања дефинисано.

Резултати су представљени по двије велике цјелине, карцином орофаринкса и карцином ларинкса. Унутар тих цијелина су поглавља која описују карактеристике узорка, анализу преживљавања, те различите клиничкопатолошке карактеристике тумора и њихов утицај. Затим слиједи поглавље о истраживаним биомаркерима и на крају поглавље регресиона анализа која описује резултате Коксовог модела пропорционалних хазарда за различите клиничкопатолошке карактеристике тумора и њихов утицај на релапс болести или настанак смртног исхода код пацијената.

Средња доб обољевања од карцинома орофаринкса је 61 година, а код карцинома ларинкса 66 година, са преминацијом мушког пола у обје групе. Пушење је један од главних фактора ризика за настанак ових карцинома, пушача код карцинома орофаринкса је било 82%, а са карциномом ларинкса 87%. Прекомјерног конзумирања алкохола је било код 57,2% пацијената у групи са карциномом орофаринкса и 63,6 % у групи карцином ларинкса. Група са раним релапсом у обје групе је показала статистички сигнификантно лошије преживљавање по свим категоријама. Након медијане праћења од 78 мјесеци за карцином орофаринкса стопа укупног преживљавања (ОС) је 22,2%, а након медијане праћења од 75 мјесеци за карцином ларинкса стопа ОС-а је 48,1%.

Експресија фактора раста у туморским ћелијама карцинома орофаринкса је била: ФЛОТ2 95,8%, ЕГФР 30,5%, p16 18,1%.

Експресија фактора раста у туморским ћелијама карцинома ларинкса је била: ФЛОТ2 88,3%, ЕГФР 39,0%, p16 10,4%.

На ОС код карцинома орофаринкса су утицали: врста хируршке процедуре, релапс болести, васкуларна инвазија, лимфна инвазија, перинеурална инвазија, узнапредовали Т стадијум болести, Н стадијум болести, пушење. На ОС код карцинома ларинкса су утицали: анатомска регија, релапс болести, васкуларна инвазија, лимфна инвазија, перинеурална инвазија, узнапредовали стадијум болести, ЕГФР, пушење, модалитет лијечења.

На период до прегресије болести (ДФС) код карцинома орофаринкса су утицали: врста хируршке процедуре, релапс болести, васкуларна инвазија, лимфна инвазија, перинеурална инвазија, узнапредовали Т стадијум болести, пушење. На ДФС код карцинома ларинкса су утицали: анатомска регија, васкуларна инвазија, перинеурална инвазија, релапс болести, узнапредовали стадијум болести, пушење, модалитет лијечења.

На болест специфично преживљавање (ДСС) код карцинома орофаринкса су утицали: врста хируршке процедуре, васкуларна инвазија, перинеурална инвазија, релапс болести и Н стадијум болести. На ДСС код карцинома ларинкса су утицали: анатомска регија, васкуларна инвазија, релапс болести, узнапредовали стадијум болести, пушење, модалитет лијечења.

Као независни прогностички фактори за ОС код карцинома орофаринкса су се показали: врста хируршке процедуре, васкуларна инвазија и релапс болести, а независни прогностички фактори за ОС код карцинома ларинкса су се показали: релапс болести, лимфна инвазија, ЕГФР и пушење.

Као независни прогностички фактори за ДФС код карцинома орофаринкса су се показали: врста хируршке процедуре, васкуларна инвазија и релапс болести, а независни прогностички фактори за ДФС код карцинома ларинкса су се показали: релапс болести, анатомска регија, модалитет лијечења и пушење.

Као независни прогностички фактори за ДСС код карцинома орофаринкса су се показали: релапс болести и Н стадијум болести, а независни прогностички фактори за ДСС код карцинома ларинкса су се показали: релапс болести и анатомска регија.

Експресија фактора раста ФЛОТ2, ЕГФР и p16 у комбинацији са другим клиничкопатолошким факторима дали су нам сазнања о нашем класичном пацијенту са тумором орофаринкса и ларинкса. То су углавном пацијенти у седмој деценији са анамнезом вишедеценијског пушења и конзумације алкохола. То је такође

јасно демонстрирано са ниским процентом експресије p16INK4a. Такође, мање од 50% пацијената је имало високу експресију ЕГФР, што дугорочно може имати утицаја на дуже преживљавање али у метастатској болести може имати лошији импакт на преживљавање због потенцијално лошијег одговора на цетуксимаб.

Ово истраживање је јединствено у БиХ, као и у земљама у окружењу и шире, по томе што представља резултате детаљне мултиваријантне анализе и стопа преживљавања након дијагнозе карцинома орофаринкса и ларинкса комбиновано са имунохистохемијским одређивањем одређених фактора раста тумора. Поред овога, будућа истраживања би могла ићи у смјеру истраживања утицаја лијечења на квалитет живота кроз мултиваријантну анализу. Поред тога, можемо истражити ефекте промјеливих фактора ризика на стопе преживљавања, као што су пушење и смањење конзумације алкохола или престанка истих након дијагнозе. Поред тога, ова студија има тачност података од дијагнозе до последњег праћења због једноцентричне природе студије и дугог периода праћења.

2. Оцјена резултата.

Комисија констатује да су добијени резултати јасно приказани, правилно, логично и јасно тумачени, упоређујући их са резултатима других аутора и да ли је студент при томе испољавао довољно критичности.

3. Нова сазнања у истраживању, те њихов теоријски и практични допринос.

Сквамозни карциноми орофаринкса и ларинкса су озбиљна онколошка обољења која значајно нарушавају опште стање пацијента. То се одражава у смислу појаве болног синдрома, одређеним степенима естетског и функционалног оштећења, психосоцијалним стресом и у коначници смањењем преживљавања и смрћу. Ово истраживање је једна свеобухватна анализа клиничкопатолошких карактеристика ових пацијената, а што је додатно испреплетено са сазнањима о биомаркерској експресији p16INK4a, ФЛОТ2 и ЕГФР. Урађена је корелација свих ових фактора и њихов учинак на преживљавање. На основу тих резултата стичемо једну свеобухватну слику о овим карциномима и на основу тога креирамо планове за адекватно лијечење ових пацијената. Ово истраживање практично доноси многе бенефите, првенствено у идентификацији пацијената који имају лоше или добре прогностичке параметре, те сходно томе се може спровести интензивнији третман или пак деескалација терапијских опција за оне пацијенте са добрим прогностичким параметрима.

4. ЗАКЉУЧАК И ПРИЈЕДЛОГ

- 1. Најзначајније чињенице које дају научни значај тези.** Докторска дисертација др мед. Дејана Ђокановића под називом „Прогностички значај морфолошких карактеристика и експресије p16INK4a, ФЛОТ2 и

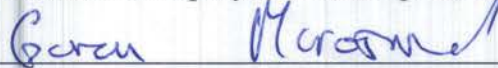
ЕГФР у сквамозном карциному орофаринкса и ларинкса“ урађена је по одобреној пријави теме и принципима израде научно-истраживачког рада, те представља оригинално и самостално дјело кандидата. Кандидат је прецизно и логички анализирао предложену тему истраживања и довео резултате у везу са постављеним хипотезама. Докторска дисертација по својој свеобухватности, добијеним резултатима и изнетим закључцима представља оригинални научни допринос из области онкологије, те омогућава боље разумјевање значаја прогностичких молекуларних биомаркера у планирању лијечења, лијечењу и ефикасности терапије код пацијената обољелих од тумора ларинкса и орофаринкса.

2. Укупна оцјена докторске дисертације и приједлог комисије:

Чланови Комисије на основу укупне оцјене докторске дисертације једногласно дају позитивну оцјену о завршеној докторској дисертацији под називом „Прогностички значај морфолошких карактеристика и експресије p16INK4a, ФЛОТ2 и ЕГФР у сквамозном карциному орофаринкса и ларинкса“ др Дејана Ђокановића и предлажу члановима Научно-наставног вијећа Медицинског факултета Универзитета у Бањој Луци и Сенату Универзитета у Бањој Луци да прихвате овај Извјештај и да омогуће кандидату да своју докторску дисертацију јавно брани.

Мјесто и датум: Бања Лука, 11.01.2024

др Горан Марошевић, ванредни професор,
ужа научна област Онкологија и радиотерапија,
Медицински факултет Универзитета у Бањој Луци



Име и презиме, титула и звање

Предсједник комисије

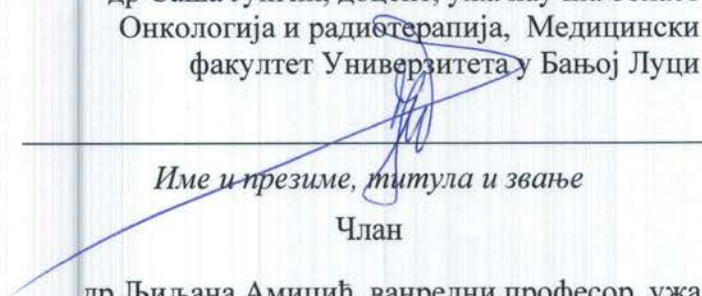
др Мирјана Ђук, ванредни професор,
ужа научна област Патологија, Медицински
факултет Универзитета у Источном Сарајеву



Име и презиме, титула и звање

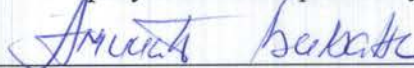
Члан

др Саша Јунгић, доцент, ужа научна област
Онкологија и радиотерапија, Медицински
факултет Универзитета у Бањој Луци


Име и презиме, титула и звање

Члан

др Љиљана Амићић, ванредни професор, ужа
научна област Хумана генетика, Медицински
факултет Универзитета у Бањој Луци



Име и презиме, титула и звање

Члан

ИЗДВОЈЕНО МИШЉЕЊЕ: Члан комисије који не жели да потпише извјештај јер се не слаже са мишљењем већине чланова комисије дужан је да у извјештај унесе образложење, односно разлоге због којих не жели да потпише извјештај.

У прилогу Извјештаја доставити:

1. Одлуку о прихватању извјештаја Комисије за оцјену подобности студента, теме и ментора за израду докторске дисертације;
2. Одлуку о именовану Комисије за оцјену урађене докторске дисертације;
3. Доказе о подобности чланова Комисије за оцјену урађене докторске дисертације (радови и пратећи докази из члана 16. Правила студирања на III циклусу студија за студије започете закључно са академском годином 2021/2022, односно докази из члана 35. Правила студирања на трећем циклусу студија за студије започете од академске 2022/2023. године); и
4. Доказе о подобности кандидата (радови и пратећи докази из члана 15. Правила студирања на III циклусу студија за студије започете закључно са академском годином 2021/2022, односно докази из члана 34. Правила студирања на трећем циклусу студија за студије започете од академске 2022/2023. године).