

**ФАКУЛТЕТ МЕДИЦИНСКИХ НАУКА  
УНИВЕРЗИТЕТ У КРАГУЈЕВЦУ  
НАСТАВНО-НАУЧНОМ ВЕЋУ**

**1. Одлука Наставно- научног већа о формирању комисије за оцену завршене докторске дисертације**

На седници Наставно-научног већа Факултета медицинских наука у Крагујевцу, одржаној дана 03.06.2015. године, одлуком 01-5586/3-39 формирана је Комисија за оцену и одбрану завршене докторске дисертације под називом

**„Имунохистохемијско проучавање неоваскуларизације и пролиферативне активности тумора паратироидне жлезде“** кандидата Др Зорке Инић, у следећем саставу:

- 1. Проф. др Александар Ђукић**, редовни професор Факултета медицинских наука Универзитета у Крагујевцу за ужу научну област Патолошка физиологија, председник;
- 2. Доц. др Слободанка Митровић**, доцент Факултета медицинских наука Универзитета у Крагујевцу за ужу научну област Патолошка анатомија, члан;
- 3. Проф. др Светислав Татић**, редовни професор Медицинског факултета Универзитета у Београду за ужу научну област Патолошка анатомија, члан;
- 4. Проф. др Снежана Јанчић**, редовни професор Факултета медицинских наука Универзитета у Крагујевцу за ужу научну област Патолошка анатомија, члан;
- 5. Проф. др Слободан Милисављевић**, ванредни професор Факултета медицинских наука Универзитета у Крагујевцу за ужу научну област Хирургија, члан.

Комисија је прегледала и проучила докторску дисертацију др Зорке Инић и подноси Наставно-научном већу следећи извештај:

## ИЗВЕШТАЈ

### 2.1 Значај и допринос докторске дисертације са становишта актуелног стања у одређеној научној области

Тема докторске дисертације кандидата др Зорке Инић под називом **„Имунохистохемијско проучавање неоваскуларизације и пролиферативне активности тумора паратироидне жлезде“** урађене под менторством проф. др Ивана Пауновића, редовног професора Медицинског факултета Универзитета у Београду, за ужу научну област Хирургија, представља оригиналну студију која се бави испитивањем корелације између неоваскуларизације и пролиферативне активности тумора паратироидне жлезде.

Ова студија представља оригинално истраживање из области ендокринологије, патологије и онкологије и базирана је на испитивању повезаности експресије маркера ћелијске пролиферације (Ki-67) и неоангиогенезе (CD105 или endoglin) са серумским нивоима паратиреоидног хормона (енгл.parathyroid hormone – PTH) и класичним прогностичким параметрима паратиреоидних аденома и карцинома.

Примарни хиперпаратироидизам је један од најчешћих ендокриних поремећаја који је у преко 80% случајева изазван тумором (аденом или карцином) паратироидне жлезде.

У класичној цитопатологији је познато да целуларни и нуклеарни атипизам и митозе могу, али и не морају да буду присутне у карциному паратироидне жлезде.

Познато је да цитолошке карактеристике и митотска активност карцинома паратироидне жлезде могу прилично да варирају показујући преклапања са налазом који се виђа код аденома, па се ове карактеристике тумора не могу користити као поуздан параметар малигнитета. Једина два сигурна критеријума малигнитета, за туморе паратироидне жлезде, су инвазија околног ткива и метастатско ширење. Будући да је појава метастаза истовремено и најважнији прогностички фактор у болесника са карциномом, то је одређивање метастатског потенцијала примарног тумора од великог значаја за прогнозу болести. Метастатско ширење тумора обезбеђује добро развијена мрежа микроциркулације. Запажено је да степен ангиогенезе може предвидети појаву метастаза у многим туморима. Бројне студије су показале да је густина туморске микроциркулације (енгл. microvessel density - MVD ) независтан прогностички фактор у предвиђању исхода многих карцинома. MVD говори о броју крвних и лимфних судова по јединици површине. MVD се може одредити употребом различитих имунохистохемијских маркера који се везују за различите компоненте ендотелних ћелија. Велика предност CD105 у односу на друге ендотелне маркере се огледа у томе што се он везује само за активирани ендотелне ћелије, односно за ендотелне ћелије у пролиферацији (оне ендотелне ћелије које учествују у туморској ангиогенези). Даље, ендоглин се не везује за запаљенске и стромалне ћелије и тиме смањује број лажно позитивних резултата. Такође, важан прогностички фактор за малигне туморе је и пролиферативни индекс туморских ћелија. Постоји сагласност у литератури да је нуклеарни пролиферативни антиген Ki-67 одличан маркер за испитивање пролиферативне активности тумора, будући да се експримира током свих активних фаза ћелијског циклуса (G1, S, G2 и митоза ), а да његова експресија изостаје у G0 фази циклуса. Позитивна корелација између експресије Ki-67, клиничког тока и метастатског потенцијала тумора различите хистогенезе је истакнута од стране многих истраживача. Такође, студије су показале да нуклеарни пролиферативни антиген Ki-67 може бити одличан маркер у разликовању карцинома од аденома.

Интересантно је да до сада није публикована ни једна студија у којој је испитиван ендотелни маркер CD105 у карциномима паратироиде, што свакако повећава значај ове студије.

## **2.2 Оцена да је урађена докторска дисертација резултат оригиналног научног рада кандидата у одговарајућој научној области**

Прегледом литературе прикупљене детаљним и систематским претраживањем биомедицинских база података „PubMed“, „Medline“, „KoBSON“, „SCIndeks“ помоћу кључних речи „parathyroid cancer“, „Ki-67“, „CD105“, „proliferation activity“, нису пронађене студије сличног дизајна и методолошког приступа.

На основу тога Комисија констатује да докторска дисертација кандидата др Зорке Инић, под називом „Имунохистохемијско проучавање неоваскуларизације и

**пролиферативне активности тумора паратиroidне жлезде“** представља резултат оригиналног научног рада, а оригиналност ове студије се огледа у томе што је први пут показана значајна повезаност експресије нуклеарног пролиферативног антигена Ki-67 и ендотелног маркера CD105 у карциномима паратиroidе.

### **2.3. Преглед остварених резултата рада кандидата у одређеној научној области**

#### **A. Лични подаци**

Др Зорка Инић је рођена 04.12.1981. у Косовској Митровици. Основну школу и VI Београдску гимназију, Природно-математички смер, завршила је у Београду са одличним успехом. Медицински факултет у Београду завршила је 2008. године. По завршеном приправничком стажу положила је стручни испит за доктора медицине. Од маја 2009. године засновала је радни однос на неодређено време на Институту за онкологију и радиологију Србије, у служби хирургије.

У априлу 2011. уз сагласност Министарства здравља Републике Србије и Управе Института за онкологију и радиологију Србије у Београду, уписала је специјалистичке студије из области Опште хирургије на Медицинском факултету Универзитета у Београду.

Докторске академске студије на Медицинском факултету Универзитета у Крагујевцу, изборно подручје Онкологија, уписала је 2008/2009. године.

Усмени докторантски испит из Онкологије је положила 18.02.2011. са оценом 10 (десет).

Члан је American Society of Clinical Oncology (ASCO) и European School of Oncology (ESO). Присуствовала је већем броју међународних и домаћих конгреса.

Течно говори енглески језик.

#### **Б. Списак објављених радова (прописани минимални услов за одбрану докторске дисертације)**

1. Zorka Inic, Momcilo Inic, Milan Zegarac, Ivana Inic and Gordana Pupic-Three Cases of Combined Therapy in Primary Breast Lymphoma (PBL) with Successful Outcomes. Clinical Medicine Insights: Oncology. 2013; 4(7):159-63. (M51)
2. Zorka Inic, Momcilo Inic, Snezana Jancic, Ivan Paunovic, Svetislav Tatic, Katarina Tausanovic, Vladislav Zivavljevic, Milan Zegarac, Ivana Inic, Dusko Dunjdjerovic. The relationship between proliferation activity and parathyroid hormone levels in parathyroid tumors. J BUON 2015; 20(2) рад у штампи и потврда је достављена. (M23)
3. Žegarac M, Nikolić S, Gavrilović D, Jevrić M, Kolarević D, Nikolić-Tomašević Z, Kocić M, Djurišić I, Inić Z, Ilić V. Prognostics factors for longer disease free survival and overall survival after surgical resection of isolated liver metastasis from breast cancer J BUON 2013; 18 (4): 859-65. (M23)

Поред ових, кандидат је такође објавила и више радова у домаћим и међународним часописима са рецензијом, у којима је аутор или коаутор.

#### **2.4. Оцена о испуњености обима и квалитета у односу на пријављену тему**

Наслов докторске дисертације и урађеног истраживања су подударни. Одобрени циљеви истраживања и постављени циљеви у раду су остали исти. Примењена методологија истраживања је идентична са одобреном.

Докторска дисертација др Зорке Инић под називом „ **Имунохистохемијско проучавање неоваскуларизације и пролиферативне активности тумора паратиroidне жлезде** “ садржи следећа поглавља: *Увод, Циљеве рада, Материјал и методе, Резултате, Дискусију, Закључак и Литературу.*

Рад садржи 23 табеларних приказа, 15 графикана и 24 слике, а у поглављима *Литература* адекватно је цитирано укупно 243 референци из савремене домаће и иностране литературе.

У уводном делу аутор у пет подпоглавља прецизно и детаљно наводи податке о открићу паратиroidних жлезда, ембриологији и анатомији паратиroidних жлезда, примарном хиперпаратироидизму, карциному паратиroidне жлезде и ангиогенези. Посебан значај у уводу има подпоглавље о карциному паратиroidне жлезде где се наводе најновија сазнања о распрострањености овог карцинома, етиологији, молекуларној патогенези, клиничкој презентацији, преоперативним испитивањима, начинима лечења, прогнози.

У другом поглављу *Циљеви рада* јасно је изложено да је основни циљ овог истраживања био испитивање повезаности експресије маркера ћелијске пролиферације (Ki-67) и неоангиогенезе (CD105) са серумским нивоима PTH и класичним прогностичким параметрима паратиroidних аденома и карцинома. У складу са основним циљем постављени су следећи циљеви:

- Анализа дистрибуције паратиroidних тумора у односу на демографске карактеристике болесника (животна доб и пол),
- Анализа паратиroidних аденома и карцинома у односу на патолошки стадијум тумора (величина примарног тумора, степен локалне туморске експанзије, присуство метастаза у регионалним лимфним жлездама и удаљене метастазе) и у односу на хистопатолошке карактеристике (хистолошки образац раста, фиброза, инвазија капсуле, инфилтрација околних структура, инвазија лимфатика, ангиоинвазија и перинеурална инвазија),
- Диференцијација паратиroidних тумора у односу на серумске нивое PTH, калцијума и неорганског фосфата у серуму на туморе који су праћени и на оне који нису праћени клинички испоњеним примарним хиперпаратироидизмом,
- Анализа имунохистохемијске експресије CD105 и нуклеарног пролиферативног антигена Ki-67 у ткивним исечцима паратиroidних аденома и карцинома,
- Корелација вредности експресије CD105 и нуклеарног пролиферативног антигена (Ki-67) са серумским нивоима PTH и клиничко-патолошким параметрима тумора.

Доказивањем значајног нивоа експресије пролиферативног нуклеарног антигена и степена неоангиогенезе, показано је да је могуће издвојити болеснике са високим ризиком за прогресију малигне болести, као и болеснике са високим ризиком за еволуцију аденома у карцином. Такође, идентификацијом прогностичких параметара се може избећи нефокусиран приступ у постоперативном третману карцинома паратироидне жлезде, чиме би се омогућила индивидуализација и евентуална селективна антитуморска терапија применом инхибитора неоангиогенезе.

*Материјал и методе* истраживања подударни су са наведеним у пријави докторске дисертације и презентовани су на одговарајући начин. Истраживање је обављено у виду ретроспективне клиничко-експерименталне студије. Овом студијом обухваћени су болесници различитог животног доба, који су оперисани, због тумора у паратироидној жлезди, у Центру за ендокрину хирургију Клиничког центра Србије, у периоду од 2001. до 2012. године. Након тога препарати су достављени Служби за патологију Центра за ендокрину хирургију, где су узорци ткива укалупљени у парафинске блокове са којих су прављени исечци за патохистолошку верификацију лезија. Парафински блокови су након постављене дијагнозе болести архивирани. Подаци о полу и животној доби, сцинтиграфији паратиреоидних жлезда, локализацији, као и о нивоу паратироидног хормона, калцијума и неорганског фосфата у серуму добијени су из медицинске документације. Циљна група, из тог периода су аденоми и карциноми паратироидне жлезде, дакле пацијенти оболели од спорадичног примарног хиперпаратироидизма, а не наследне форме узроковане генским мутацијама. Са парафинских блокова, на микротому, прављени су исечци дебљине 4–5  $\mu\text{m}$ , који су монтирани на високо адхерентне плочице. После депарафинизације ткивних узорака је примењена рутинска хематоксилин-еозин метода бојења за податке о патолошком стадијуму болести, патохистолошку верификацију хистолошког типа тумора, градуса тумора, присуству интра- и перитуморског лимфоцитног одговора, стромалном одговору-дезмоплазији, лимфатичној, венској и перинеуралној инвазији, присуству некрозе у тумору. У оквиру имунохистохемијског истраживања, за испитивање пролиферативне активности тумора користили смо антитело за доказивање нуклеарног пролиферативног антигена Ki-67, а за идентификацију новостворених крвних судова у тумору CD105.

У циљу анализе података прикупљених клиничким истраживањем формирана је база података у статистичком програму SPSS15 помоћу којег су подаци и анализирани. Примењени су методи дескриптивне статистике (фреквенције, проценти, средње вредности и мере варијабилитета). Од аналитичких статистичких метода коришћени су: Smirnov test, Shapiro-Wilk test, Student-ов t-test, једнофакторска анализа варијансе, анализа варијансе за поновљена мерења,  $\chi^2$  test, Mann-Whitney U тест, Wilcoxon-ов тест еквивалентних парова, Fisher-ов тест тачне вероватноће, ROC анализа, једнострука линеарна корелација и вишеструка линеарна регресија.

*Резултати* истраживања су систематично приказани и добро документовани са 23 табеле и 21 графикомом. Примењено је да постоји већа стопа ангиогенезе и ћелијске пролиферације у малигним туморима у односу на бенигне. У овој студији, у поређењу са бенигним туморима, примењено је значајно повећање броја крвних судова у малигним туморима, што указује да развој крвних судова одражава инвазивност тумора

паратироидне жлезде. Откривено је да је Ki-67 пролиферативни индекс и експресија ендоглина много већа у паратироидним карциномима него у аденомима што нам може помоћи у разликовању између ова два тумора. Утврђено је да су Ki-67 и MVD добри предиктори за постављање дијагнозе карцинома паратироиде и да постоји високо статистички значајна корелација између ова два биомаркера. Показали смо и њихову корелацију са осталим обележјима. Закључено је да је серумски ниво преоперативног PTH користан за предикцију паратироидних карцинома и да он високо статистички значајно корелише још са масом тумора, са промером тумора, са вредностима калцемије преоперативно и са Ki-67 и MVD. Величина паратироидних тумора може бити важан фактор у предвиђању паратироидних карцинома код пацијената са примарним хиперпаратироидизмом. Такође смо утврдили да је већа вероватноћа да болесник са великом масом тумора има карцином него аденом.

У поглављу *Дискусија* представљена је анализа добијених резултата и њихово поређење са литературним подацима из ове области. Коментари добијених резултата су језгровити, а начин приказивања података чини их прегледним и разумљивим. При томе су наведени ставови из најзначајнијих оригиналних и ревијских научних радова поменуте области.

У *Закључку* се, поред осталог, наводи да се очекује да ће ови резултати допринети бољем разумевању понашања ових тумора, помоћи у прогнози и допринети развоју нових терапијских приступа и могућих предиктивних дијагностичких метода.

*Литература* је адекватна по обиму и садржини. Цитиране су 243 библиографске јединице из домаћих и иностраних стручних публикација

На основу претходно изнетих чињеница, Комисија сматра да завршена докторска дисертација под насловом **“Имунохистохемијско проучавање неоваскуларизације и пролиферативне активности тумора паратироидне жлезде”**, по обиму и квалитету израде у потпуности одговара пријављеној теми дисертације.

## 2.5. Научни резултати докторске дисертације

Најзначајнији резултати истраживања су садржани у следећим закључцима:

1. Примећено је да постоји већа стопа ангиогенезе и ћелијске пролиферације у малигним туморима у односу на бенигне.
2. У овој студији, у поређењу са бенигним туморима, примећено је значајно повећање броја крвних судова у малигним туморима, што указује да развој крвних судова одражава инвазивност тумора паратироидне жлезде.
3. Регистровано је да је Ki-67 пролиферативни индекс и експресија ендоглина много већа у паратироидним карциномима него у аденомима, што може помоћи у разликовању ова два тумора.

4. Утврђено је да су Ki-67 и MVD добри предиктори за постављање дијагнозе карцинома паратириоиде и да постоји високо статистички значајна корелација између ова два биомаркера. Показана је и њихова корелација са осталим обележјима.
5. Закључено је да је серумски ниво преоперативног PTH користан за предикцију паратириодних карцинома и да он високо статистички значајно корелише још са масом тумора, са промером тумора, са вредностима калцемије преоперативно, Ki-67 и MVD.
6. Величина паратириодних тумора може бити важан фактор у предвиђању РС код пацијената са РНРТ.
7. Такође је утврђено да је већа вероватноћа да болесник са великом масом тумора има карцином него аденом.

## **2.6. Примењивост и корисност резултата у теорији и пракси**

Презентовани резултати истраживања дају оригинални допринос бољем разумевању карцинома паратириодне жлезде. Резултати ове студије добијени семиквантитативном анализом експресије испитиваних маркера су у корелацији са клиничким и патолошким карактеристикама. Сматра се да су они од значаја за лошу прогнозу карцинома параштитасте жлезде.

Очекује се да ће ови резултати допринети бољем разумевању понашања овог тумора, помоћи у прогнози и допринети развоју нових терапијских приступа и могућих предиктивних дијагностичких метода.

## **2.7. Начин презентирања резултата научној јавности**

Резултати истраживања који се односе на испитивање корелације између неоваскуларизације и пролиферативне активности тумора паратириодне жлезде су прихваћени за публикавање у часопису од међународног значаја (J BUON 2015; 20(2) рад у штампи и потврда је достављена (M23)), а планирано је да остали резултати овог истраживања такође буду публиковани као оригинално истраживање у часопису од међународног значаја, односно презентовани на научним и стручним скуповима у форми усмене или постер презентације.



## ЗАКЉУЧАК

Комисија за оцену и одбрану завршене докторске дисертације кандидата др Зорке Инић под називом „Имунохистохемијско проучавање неоваскуларизације и пролиферативне активности тумора паратироидне жлезде“ на основу свега наведеног сматра да је истраживање у оквиру дисертације адекватно постављено и спроведено.

Комисија сматра да докторска дисертација кандидата др Зорке Инић урађена под менторством проф. др Ивана Пауновића, има оригинални научни и практични значај у испитивању неоваскуларизације и пролиферативне активности тумора паратироидне жлезде.

На основу свега изложеног Комисија предлаже Наставно-научном већу Факултета медицинских наука Универзитета у Крагујевцу да докторска дисертација под називом „Имунохистохемијско проучавање неоваскуларизације и пролиферативне активности тумора паратироидне жлезде“ кандидата др Зорке Инић буде позитивно оцењена и одобрена за јавну одбрану.

## ЧЛАНОВИ КОМИСИЈЕ

1. **Проф. Др Александар Ђукић**, редовни професор Факултета медицинских наука Универзитета у Крагујевцу за ужу научну област Патолошка физиологија, председник

---

2. **Доц. Др Слободанка Митровић**, доцент Факултета медицинских наука Универзитета у Крагујевцу за ужу научну област Патолошка анатомија, члан

---

3. **Проф. др Светислав Татић**, редовни професор Медицинског факултета Универзитета у Београду за ужу научну област Патолошка анатомија, члан

---

4. **Проф. Др Снежана Јанчић**, редовни професор Факултета медицинских наука Универзитета у Крагујевцу за ужу научну област Патолошка анатомија, члан

---

5. **Проф. Др Слободан Миљисављевић**, ванредни професор Факултета медицинских наука Универзитета у Крагујевцу за ужу научну област Хирургија, члан

---

У Крагујевцу,  
25.06.2015.