

**NAUČNOM VEĆU MEDICINSKOG FAKULTETA  
UNIVERZITETA U BEOGRADU**

Na sednici Naučnog veća Medicinskog fakulteta u Beogradu, održanoj dana 21.05.2018. godine, broj 5940/16-LP, imenovana je komisija za ocenu završene doktorske disertacije pod naslovom:

**„Značaj kliničkih, biomolekularnih i patoloških parametara za prognozu Ewing sarkoma kosti kod dece”**

kandidata dr Lejle Paripović, zaposlene u Institutu za onkologiju i radiologiju Srbije u Beogradu. Mentor je Prof. dr Marina Nikitović, Institut za onkologiju i radiologiju Srbije.

Komisija za ocenu završene doktorske disertacije imenovana je u sastavu:

1. Prof.dr Dragana Vujić, profesor Medicinskog fakulteta u Beogradu
2. Prof. dr Lidija Krivokapić Dokmanović, profesor Medicinskog fakulteta u Beogradu
3. VNS dr sc Radmila Janković, Institut za onkologiju i radiologiju Srbije, Beograd

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

**IZVEŠTAJ**

**A) Prikaz sadržaja doktorske disertacije**

Doktorska disertacija Dr Lejle Paripović napisana je na ukupno 174 strane i podeljena je na sledeća poglavlja: uvod, ciljevi rada, materijal i metode, rezultati, diskusija, zaključci i literatura. U disertaciji se nalazi ukupno 34 tabele, 19 grafikona i 13 slika.

Doktorska disertacija sadrži sažetak na srpskom i engleskom jeziku, podatke o komisiji, zahvalnicu, spisak skraćenica korišćenih u tekstu i biografiju kandidata.

U uvodu su opisani epidemiološki podaci i etiologija, nomenklatura, genetičke karakteristike tumora i patohistologija Ewing sarkoma. Detaljno je objašnjena klinička slika i dijagnostika Ewing sarkoma sa hirurškim i patohistološkim dijagnostičkim procedurama. Savremeni principi lečenja u skladu sa važećim preporukama zasnovani su na neophodnoj dijagnostici kao i određivanju stadijuma bolesti, što je u uvodu objašnjeno. S obzirom da je savremeno lečenje zasnovano na prognostičkim parametrima u uvodu su detaljno opisani klinički, biomolekularni i patološki parametri kao parametri prognoze i podela Ewing sarkoma na prognostičke grupe. Opisani su principi savremenog multidisciplinarnog lečenja Ewing sarkoma: hemioterapija i modaliteti lokalnog lečenja-hirurgija i radioterapija. Takođe su objašnjeni princip lečenja metastatskog oblika bolesti i recidiva Ewing sarkoma.

Na kraju uvoda bilo je reči o toksičnosti onkološke terapije o kojoj se sve više govori i koja predstavlja posebnu oblast istraživačkog rada kao i o kvalitetu života obolelih pacijenata.

Ciljevi rada su precizno definisani. Sastoje se od određivanja prognostičkog značaja kliničkih, biomolekularnih i patoloških parametara kao i analize ishoda lečenja pacijenata u odnosu na ukupno preživljavanje (eng. overall survival, OS), na preživljavanje bez događaja (eng. event free survival, EFS) i na preživljavanje bez bolesti (eng. disease free survival, DFS).

U poglavlju **materijal i metode** navedeno je da se radi o istraživanju koje je obuhvatilo grupu od 107 pacijenata sa dijagnostikovanom Ewing sarkomom koštanog porekla koji su lečeni kombinovanim multidisciplinarnim pristupom (hemioterapija, zračna terapija) u Institutu za onkologiju i radiologiju Srbije u periodu od januara 2000. do decembra 2014.godine i praćeni do decembra 2016 godine. Inicijalna dijagnostika kao i hirurško lečenje je najčešće sprovedeno u Institutu za ortopedsko-hirurške bolesti "Banjica" u Beogradu, a histopatološka dijagnostika urađena je u Institutu za patologiju Medicinskog fakulteta, Univerziteta u Beogradu. U drugom delu poglavlja detaljno su objašnjeni principi multidisciplinarnog lečenja, detalji sprovedene hemioterapije i modaliteta lokalnog lečenja koji su podrazumevali primenu različitih vidova hirurgije i zračne terapije.

U poglavlju **rezultati** detaljno su opisani i jasno predstavljeni svi dobijeni rezultati.

**Diskusija** je napisana jasno i pregledno, uz prikaz podataka drugih istraživanja sa uporednim pregledom dobijenih rezultata doktorske disertacije.

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

Korišćena **literatura** sadrži spisak od 229 reference.

## **B) Kratak opis postignutih rezultata**

U analizu je uključeno 107 pacijenata obolelih od Ewing sarkoma kosti koji su multidisciplinarno lečeni hemioterapijom, hirurgijom i radioterapijom. Odnos muškog u odnosu na ženski pol iznosio je 1.48:1. Srednji uzrast bio je 13.07 godine (rang 3-19). Kada smo pacijente podelili u dve grupe prema uzrastu, mlađe i starije od četrnaest godina, 60 (56.07%) je bilo uzrasta do četrnaest godina, a 47 (43.93%) je bilo starije od četrnaest godina. Trajanje simptoma od početka bolesti do početka lečenja bilo je od 1 do 36 meseci, medijana 3 meseca.

Najčešća lokalizacija primarnog tumora bila je na ekstremitetima (48.6%), 25.23% pacijenata imalo je karličnu prezentaciju tumora a 21.5 % pacijenata, tumor koji je bio centralno lokalizovan.

Pojedinačno najzastupljenija primarna lokalizacija tumora bio je femur, kod 17.76% pacijenata.

Tumor veći od 8 cm dijagnostikovao je kod 61. 68% pacijenata, dok je tumor dimenzija manjih od 8 cm bio prisutan kod 38.32% pacijenata.

Inicijalna vrednost LDH bila je povišena kod 45.79% pacijenata.

U trenutku dijagnostikovanja bolesti, metastatski oblik bolesti potvrđen je kod ukupno 31.78% pacijenata od kojih je 50% pacijenata imalo izolovane plućne metastaze, 26.47% izolovane koštane metastaze dok je 23.53% metastatskih pacijenata imalo i koštane i plućne metastaze u trenutku dijagnostikovanja bolesti.

Kada je istraživanje završeno, 31.12.2016 godine, 47/107 (43.93%) pacijenata je bilo živo dok je kod 60/107 (56.07%) pacijenata došlo do smrtnog ishoda. Relaps bolesti imalo je 63

(58.88%) pacijenata. Lokalizacija relapsa je bila sledeća: lokalni relaps imalo je 7 (11.11%) pacijenata, udaljene metastaze 32 (50.79%), dok su lokalni relaps i udaljene metastaze dijagnostikovane kod 22 (34.92%) pacijenata. Udaljene metastaze su najčešće bile lokalizovane na kostima (20 pacijenata), kod 14 pacijenata dijagnostikovane su plućne metastaze, kod 12 pacijenata su dijagnostikovane i koštane i plućne metastaze dok su kod ostalih 8 pacijenata dijagnostikovane druge udaljene metastaze.

Nakon završenog kompletnog kombinovanog onkološkog lečenja, pacijenti su praćeni od 1.94 do 201.8 meseci. Prosečno vreme praćenja iznosilo je 56.5 meseci (SD=51) dok je medijana bila 36.92 meseci.

Ukupno preživljavanje (OS) i preživljavanje bez događaja (EFS) ispitivano je kod svih pacijenata dok je preživljavanje bez znakova bolesti (DFS) ispitivano kod 76/107 (71.3%) pacijenata koji su završili kompletno onkološko lečenje bez znakova bolesti.

Ukupno preživljavanje (OS) za celu grupu ispitivanih pacijenata iznosi: trogodišnje 53.1%, petogodišnje 43.8% a desetogodišnje 42.5%. Preživljavanje bez događaja (EFS) iznosi: trogodišnje 42.0%, petogodišnje 38.0% i desetogodišnje 38.0%. Preživljavanje bez znakova bolesti (DFS) iznosi: trogodišnje: 55.0%, petogodišnje 53.4% i desetogodišnje 53.4%.

Od interesa za ovo istraživanje bilo je ispitivanje povezanosti određenih parametara sa dužinom i verovatnoćom ukupnog preživljavanja kao i preživljavanja bez događaja.

Analizirali smo rezultate lečenja u odnosu na uzrast. Pacijente smo podelili u dve grupe. Prvu grupu je činilo 60 pacijenata uzrasta ispod četrnaest godina, a drugu grupu 47 pacijenata uzrasta preko četrnaest godina. Testiranjem značajnosti razlike log rank testom u kumulativnoj verovatnoći ukupnog preživljavanja za ove dve grupe bolesnika, potvrđena je statistički značajna razlika u ukupnom preživljavanju ( $p=0.006$ ). Takođe, dokazano je da postoji statistički značajna razlika između vremena preživljavanja bez događaja u odnosu na uzrast ( $p=0.0035$ ). Bolje je preživljavanje pacijenata mlađih od 14 godina.

Rezultati lečenja analizirani u odnosu na pol pokazali su nešto bolje ukupno kao i preživljavanje bez događaja muškog pola ali nije potvrđena statistička značajnost.

Lokalizacija tumora je analizirana kod 52/107 pacijenata sa lokalizacijom primarnog tumora na nekom od ekstremiteta, kod 27/107 pacijenata sa karličnom lokalizacijom tumora i kod 23/107 pacijenata koji su imali centralnu lokalizaciju tumora.

Statistički značajna razlika u ukupnom preživljavanju u odnosu na lokalizaciju primarnog tumora pokazana je samo u slučaju karlične lokalizacije tumora ( $p=0.0008$ ), dok u slučaju drugih lokalizacija statistički značajne razlike nisu pokazane. Takođe, osim kod lokalizacije karlica, nije pokazana statistički značajna razlika u preživljavanju bez događaja u odnosu na lokalizaciju tumora ( $p=0.0002$ ).

Analizirali smo preživljavanje u odnosu na veličinu tumora. Pacijenti su podeljeni u dve grupe: pacijenti kod kojih je tumor bio manji od 8 cm (38.32%) i grupa pacijenata kod kojih je tumor bio veći od 8 cm. Testiranjem značajnosti razlike log rank testom u kumulativnoj verovatnoći ukupnog i preživljavanja bez događaja, značajno bolje preživljavanje su imali pacijenti sa tumorom manjim od 8 cm. Dokazana je statistički značajna razlika u ukupnom preživljavanju u odnosu na veličinu primarnog tumora ( $p=0.0001$ ) kao i razlika u preživljavanja bez događaja ( $p=0.0005$ ).

Inicijalna vrednost LDH u serumu je analizirana kao mogući prognostički parametar. Pacijenti su podeljeni u dve grupe: grupu pacijenata sa normalnim vrednostima (49.53%) i grupu sa povišenim vrednostima LDH (45.79%). Testiranjem značajnosti razlike log rank testom u kumulativnoj verovatnoći ukupnog i preživljavanja bez događaja, dokazana je je statistički značajna razlika u ukupnom ( $p=0.004$ ) kao i u preživljavanju bez događaja ( $p=0.023$ ).

Dokazana je visoko statistički značajna razlika u ukupnom preživljavanju pacijenata sa lokalizovanim oblikom u odnosu na pacijente sa metastatskim oblikom Ewing sarkoma. Kumulativna verovatnoća ukupnog preživljavanja za grupu od 73 (68.22%) pacijenata sa lokalizovanim oblikom bolesti iznosi: trogodišnje 65.5%, petogodišnje 56.4%, a desetogodišnje 54.3%. OS za grupu od 34 (31.78%) sa metastatskim oblikom bolesti iznosi: trogodišnje 26.5%, dok petogodišnje i desetogodišnje iznose 17.6%. Testiranjem značajnosti razlike u kumulativnoj verovatnoći ukupnog preživljavanja log rank testom za ove dve grupe bolesnika, sa lokalizovanim i metastatskim oblikom bolesti postoji visoko statistički značajna razlika u preživljavanju. Značajno je bolje preživljavanje pacijenata sa lokalizovanim oblikom bolesti u odnosu na pacijente sa metastatskim oblikom bolesti ( $p<0,0001$ ).

Analizirana je i kumulativna verovatnoća preživljavanja bez događaja za grupu od 73 (68.22%) pacijenata sa lokalizovanim oblikom bolesti i iznosi: trogodišnje 53.4% dok su petogodišnje i dšestogodišnje vrednosti jednake, 47.3%. Kumulativna verovatnoća preživljavanja bez događaja za grupu od 34 (31.78%) pacijenata sa metastatskim oblikom bolesti iznosi 17.6% za trogodišnje, petogodišnje i desetogodišnje praćenje. Takođe je dokazano značajno bolje preživljavanje bez događaja pacijenata sa lokalizovanim oblikom bolesti u odnosu na pacijente sa metastatskim oblikom bolesti ( $p < 0,0001$ ).

Ukupno preživljavanje je analizirano kod 17/34 (50%) pacijenata kod kojih su dijagnostikovane plućne metastaze, kod 9/34 pacijenata kod kojih su dijagnostikovane koštane metastaze i kod 8/34 pacijenta koji su imali i plućne i koštane metastaze u trenutku dijagnostikovanja bolesti. Potvrđena je statistički značajna razlika u preživljavanju ( $p < 0,0001$ )

Daljom analizom, dobijeni su rezultati testiranja razlika u ukupnom preživljavanju između parova metastaska lokalizacija tumora. Potvrđeno je bolje preživljavanje u slučaju postojanja izolovanih plućnih metastaza u odnosu na koštane metastaze ( $p = 0,001$ ) kao i u odnosu na postojanje kombinovanih plućnih i koštanih promena ( $p = 0,003$ ). Takođe je potvrđeno da grupa sa koštanim metastazama ima lošije preživljavanje bez događaja od grupe bez metastaza ili sa samo plućnim metastazama dok je grupa sa plućnim i koštanim metastazama sa najlošijim preživljavanjem bez događaja u odnosu na ostale grupe.

Analizirali smo rezultate lečenja u odnosu na patohistološki odgovor na primenjenu neoadjuvantnu hemioterapiju kao mogući terapijski prognostički parametar. Pacijente koji su nakon sprovedene neoadjuvantne hemioterapije imali hirurško lečenje podelili smo u dve grupe. Prvu grupu je činilo 39 od 65 pacijenata kod kojih je određen histopatološki odgovor na primenjenu hemioterapiju i čiji je odgovor procenjen kao dobar dok je drugu grupu činila grupa od 26/65 pacijenata kod kojih je procenjen odgovor bio loš. Testiranjem značajnosti razlike log rank testom u kumulativnoj verovatnoći ukupnog preživljavanja za ove dve grupe pacijenata, u odnosu na patohistološki odgovor postoji visoko statistički značajna razlika u preživljavanju. Bolje preživljavanje imala je grupa pacijenata kod kojih je patohistološki odgovor na primenjenu hemioterapiju procenjen kao dobar. Postoji statistički značajna razlika

u ukupnom preživljavanju u odnosu na patohistološki odgovor na primenjenu neoadjuvantnu hemioterapiju ( $p=0,021$ ), kao i u preživljavanju bez događaja ( $p=0.0099$ ).

Analizirali smo rezultate lečenja u odnosu na sprovedene modalitete lokalne kontrole bolesti. Ukupno preživljavanje u odnosu na učinjeni modalitet lokalne kontrole bolesti ispitivano je kod 103/107 pacijenta. Kod 24/103 pacijenta sprovedeno je samo hirurško lečenje kao modalitet lokalne kontrole bolesti, isti broj pacijenata imao je samo zračnu terapiju kao modalitet lokalnog lečenja, dok su kod 55/103 pacijenata kao vid lokalnog lečenja sprovedena oba modaliteta (hirurgija i zračna terapija). Postoji statistički značajna razlika u vremenu (OS) po nivoima parametra tip lokalne kontrole bolesti ( $p=0.0012$ ). Analizom ukupnog preživljavanja kod ove tri grupe pacijenata uočena je razlika u ukupnom preživljavanju po nivoima tip lokalne kontrole a daljom analizom kombinacija lokalnog lečenja dobili smo da su naši pacijenti koji su operisani kao i oni koji su kao vid lokalnog lečenja imali i hirurgiju i zračnu terapiju u odnosu na one koji su samo zračeni imali značajno bolje ukupno preživljavanje kao što je pokazala i analiza preživljavanja bez događaja.

### **C) Uporedna analiza doktorske disertacije sa rezultatima iz literature**

Ewing-ov sarkom kosti predstavlja redak tumor koji zahteva kompleksan tretman, multidisciplinarni pristup i lečenje u referentnom centru. Veliki napredak u lečenju Ewing sarkoma postignut je poslednjih četrdesetak godina zahvaljujući pažljivo planiranom multimodalnom lečenju koje podrazumeva kombinovanu primenu intenzivne hemioterapije i individualno planiranje lokalne kontrole bolesti, a sve u cilju poboljšanja dugoročnog preživljavanja i ishoda bolesti.

Ewing-ov sarkom je drugi po učestalosti maligni tumor kosti. Javlja se kod dece svih uzrasta, najčešće u drugoj dekadi života. Prosečan uzrast pacijenata obolelih od ES u literaturi je 15 godina. U izveštaju St. Jude Children's Research Hospital, srednji uzrast njihovih pacijenata bio je 13.7 godina dok je u studiji Paulussena i saradnika, prosečan uzrast pacijenata bio 15

godina. U našoj ispitivanoj grupi od 107 pacijenata, srednji uzrast u vreme postavljanja dijagnoze bio je 13.07 godina, najmlađi pacijent je imao 3 godine a najstariji 19 godina. U do sada sprovedenim studijama, stariji uzrast je pokazao nepovoljniji ishod. U jednoj od većih sprovedenih studija, Cotterill i saradnici su analizirajući podatke Evropske kooperativne ES grupe, kao nepovoljne prognostičke parametre izdvojili uzrast uz metastatski oblik bolesti i lokalizaciju tumora. Američko udruženje za rak i Nacionalni institut za rak objavili su podatke o petogodišnjem preživljavanju od 78% za decu uzrasta ispod 15 godina i 60% za adolescente uzrasta od 15 do 19 godina. Shodno studiji autora Galindo Rodriguez i saradnika iz St. Jude Children's Research Hospital, pacijenti starijeg uzrasta su u većem procentu imali veće tumore i češće karlične prezentacije. Kod pacijenata sa lokalizovanim oblikom bolesti iz ove studije, uzrast ispod 14 godina je signifikantno imao bolje ukupno preživljavanje u odnosu na stariji uzrast (82.7% vs.65.2%) ali se za EFS u ovoj grupi pacijenata nije dokazala statistička značajnost. U pojedinim sprovedenim studijama, uzrast nije potvrđen kao parametar nepovoljnog ishoda bolesti. U našoj grupi, od 107 analiziranih pacijenata, 3-godišnje ukupno preživljavanje za 56.07% pacijenata mlađih od 14 godina iznosi 64.9%, 5-godišnje je 53.09%, a za 43.93% pacijenata uzrasta preko 14 godina 3-godišnje preživljavanje iznosi 37.8% a 5-godišnje 30.7%. Dobijeni rezultati su nešto niži nego kod većine dostupnih studija. Mislimo da je razlog taj što je u našoj studiji bio veći broj pacijenata sa metastatskim oblikom bolesti u trenutku dijagnostikovanja kao i sa tumorom većih dimenzija. Analizom ukupnog i preživljavanja bez događaja u odnosu na uzrast kod naših pacijenata je dobijena statistički značajna razlika i time je potvrđeno da uzrast pacijenta u trenutku dijagnostikovanja bolesti može biti važan prognostički parametar.

Prema podacima iz literature u odnosu na pol postoji blaga predominacija muškog pola i odnos između obolelih je 1.2-1.5:1. U našoj ispitivanoj grupi odnos muškog u odnosu na ženski pol iznosio je 1.48:1. Neke studije su objavile da ženski pol ima bolju prognozu u odnosu na muški pol iako to nije dokazano u većini studija. U studiji sprovedenoj u Memorial Sloan Kettering Cancer Center, kao i u studiji Lee i saradnika, pol nije predstavljen kao prognostički parametar za ishod bolesti. Naša studija je potvrdila zaključke većine studija, nismo dokazali da je pol značajan prognostički parametar za prognozu ES.



Kao jedan od značajnih prognostičkih parametara pominje se i inicijalna vrednost LDH u serumu. U studiji sprovedenoj u Velikoj Britaniji pokazano je da su pacijenti sa povišenim vrednostima serumske LDH imali lošiju prognozu od pacijenata sa normalnim vrednostima. Povišena vrednost LDH korelirala je sa veličinom tumora. Pokazano je da vrednost LDH ima prognostički potencijal.

Od naših 107 ispitanika, njih 45.79% je u trenutku dijagnostikovanja bolesti imalo povišenu vrednost LDH. Potvrđena je statistički značajna razlika u OS kao i u EFS, tako da možemo potvrditi da povišen nivo LDH može imati prognostički značaj.

Lokalizacija tumora predstavlja važan prognostički parametar. Većina studija navodi da je lokalizacija tumora u predelu ekstremiteta najčešće zastupljena lokalizacija ES. Prema dostupnim podacima, najbolju prognozu imaju pacijenti sa lokalizacijom tumora u predelu distalnih ekstremiteta. Kod pacijenata uzrasta iznad 14 godina, lokalizacija tumora u predelu karlice je često zastupljena mada se to može tumačiti na način da je karlična šupljina prostor gde tumor može da se širi a da ne bude odmah primećen, za razliku od tumora koji su lokalizovani na ekstremitetima. To se podudara sa istraživanjem gde je je utvrđeno da su tumori karlice obično veliki i da pacijenti sa karličnom primarnom lokalizacijom tumora imaju signifikatno veći procenat metastatskog oblika bolesti. Najčešća lokalizacija ES kod ispitivanih pacijenata su ekstremiteti (48.6%) i to 33/52 (77,78%) kod dece uzrasta ispod 14 godina. Karlična lokalizacija tumora je zastupljena kod 25.23% pacijenata i to kod 15/27 (55.55%) pacijenata uzrasta iznad 14 godina. Lokalizacija tumora u predelu centralnog dela je kod 21.5% pacijenata dok se kod 4.67% pacijenata opisuju neke druge lokalizacije. Podaci o učestalosti ES ekstremiteta i karlice koreliraju sa podacima iz literature dok je predeo centralne lokalizacije u našoj studiji bio manje zastupljen. U multivarijantnoj analizi, Lee i saradnici su utvrdili da su metastatski oblik bolesti kao i veliki tumorski volumen predstavljali nezavisne prognostičke parametre za nepovoljan ishod dok to nije dokazano za karličnu lokalizaciju tumora. Ipak, karlična lokalizacija tumora je povezana sa lošijim preživljavanjem zbog visoke korelacije sa metastaskim oblikom bolesti i velikim tumorom. (219)

Statistički značajna razlika u ukupnom i preživljavanju bez događaja u odnosu na lokalizaciju primarnog tumora pokazana je samo u slučaju karlične lokalizacije tumora.

Kao potencijalni prognostički parametar analizirana je i veličina tumora. Prema rezultatima prikazanim od autora iz St. Jude Children's Research Hospital, najznačajniji nezavisni prognostički parametri vezani za preživljavanje su stadijum bolesti i veličina tumora. Dokazana je statistički značajna razlika u ukupnom preživljavanju kao i preživljavanje bez događaja u odnosu na inicijalnu veličinu primarnog tumora.

Pojedinačno najvažniji dokazani prognostički parametar ukupnog ishoda bolesti, po mnogim autorima, je postojanje metastatskog oblika bolesti u trenutku dijagnostikovanja.

Prema literaturi, u trenutku dijagnostikovanja bolesti, metastaze se otkrivaju kod 15% do 33% pacijenata sa procentom preživljavanja od 9% do 41% za razliku od procenjenog preživljavanja od oko 70% kod pacijenata sa lokalizovanim oblikom bolesti. Lokalizacija metastatskog oboljenja je, kao što je poznato, bitan parametar za prognozu bolesti.

Dokazano je da pacijenti sa lokalizovanim plućnim metastazama imaju bolje preživljavanje od pacijenata sa primarnim koštanim i/ili metastazama u kostnoj srži. . Preživljavanje bez događaja kod pacijenata sa izolovanim plućnim metastazama iznosi od 29% do 52%, pogotovu ako je kao terapijski modalitet sprovedena zračna terapija "kupanje pluća" ili VDHT sa RMČH. Za pacijente sa koštanim metastazama EFS iznosi 19% a ukoliko su zahvećeni i kosti i pluća, EFS iznosi samo 8%. Međutim, i pored primenjenih različitih strategija lečenja, rezultati su i dalje nezadovoljavajući. U našoj studiji, od 107 pacijenata, njih 34 (31,78%) je imalo metastatski oblik bolesti u trenutku postavljanja dijagnoze. Dobijeni podaci ukazuju na višu incidencu metastatske bolesti u našoj grupi ispitanika u odnosu na podatke iz literature gde je metastaska bolest inicijalno prisutna kod prosečno 25% pacijenata. Lokalizacija karlica i metastatski oblik je bio dijagnostikovao kod 10/34 pacijenata. 27/34 pacijenata je imalo veličinu tumora veću od 8 cm. Polovina pacijenata sa metastatskim oblikom bolesti u našoj studiji je imala metastaze samo na plućima, 9/34 pacijenata je imalo koštane metastaze dok je 8/34 pacijenata imalo i plućne i koštane meta promene.

Rezultati lečenja pacijenata sa primarnim plućnim metastazama ES koji su lečeni konvencionalnom hemioterapijom su pokazali lošu prognozu tih pacijenata i preživljavanje bez događaja (EFS) u rasponu od 23% do 36%.

U našoj grupi ispitanika koji su dijagnostikovani sa metastatskim oblikom bolesti, polovina je imala izolovane plućne metastaze. Ukupno 5-godišnje preživljavanje i preživljavanje bez događaja kod tih pacijenata je iznosilo 35.3%. Daljom analizom, rezultati testiranja parova su pokazali da grupa sa koštanim metastazama ima lošije preživljavanje od pacijenata koji su imali samo plućne metastaze dok su najlošiju prognozu imali pacijenti koji su imali kombinovane metastaske promene (pluća i kosti).

Analiza preživljavanja pacijenata u našoj grupi je pokazala statističku značajnost u preživljavanju između grupa testiranih metastatskih lokalizacija.

Najznačajniji prognostički parametar koji se odnosi na procenu terapijskog odgovora na primenjenu terapiju je procena histopatološkog odgovora na primenjenu neoadjuvantnu (preoperativnu) hemioterapiju, što se može utvrditi histopatološkim pregledom tumora nakon učinjene hirurške procedure a na osnovu određenog stepena nekroze tumora.

U studiji autora Ferrari i saradnici iz 2007 godine koja je proučavala prediktivne faktore dobrog histopatološkog odgovora u seriji od 122 pacijenta sa lokalizovanim oblikom bolesti koji su hirurškim putem lečeni u Institutu Rizzoli u Bolonji, kao jedini nezavisni prediktivni parametri dobrog histološkog odgovora su označeni uzrast i pol. Pacijenti uzrasta ispod 15 godina su imali signifikantno bolji histopatološki odgovor na primenjenu HT.

Gaspar i saradnici su u analizi francuske EW 93 studije potvrdili povoljan ishod lečenja kod pacijenata sa dobrim histopatološkim odgovorom. Gaspar i saradnici su u analizi francuske EW 93 studije potvrdili povoljan ishod lečenja kod pacijenata sa dobrim histopatološkim odgovorom. (172)

U našoj studiji je odgovor na primenjenu preoperativnu hemioterapiju ispitivan kod 65/107 pacijenata kod kojih je kao vid lokalnog lečenja, nakon neoadjuvantne hemioterapije sprovedeno hirurško lečenje. Dobar odgovor je dobijen kod 60% pacijenata dok je loš odgovor dijagnostikovao kod 40% pacijenata. Rezultati ispitivanja ukupnog i preživljavanja bez događaja pokazali su 5-godišnji OS i EFS u grupi sa dobrim odgovorom od 61.4% odnosno 56.4%. U grupi sa lošim odgovorom na primenjenu preoperativnu hemioterapiju ukupno 5-godišnje preživljavanje je iznosilo 31.6% dok je preživljavanje bez događaja za isti period iznosilo 30.8%. Naši rezultati potvrđuju da je odgovor na primenjenu

neoadjuvantnu hemioterapiju signifikantan parametar za prognozu ishoda lečenja kod pacijenata sa ES.

Lokalna kontrola primarnog Ewing sarkoma može se postići hirurgijom, zračnom terapijom ili kombinacijom oba modaliteta. Izbor je baziran na proceni budućeg mogućeg stepena morbiditeta uslovljenog primenom određenog vida lokalnog lečenja za svakog pacijenta pojedinačno. Shodno tome, optimalni pristup za lokalnu kontrolu predstavlja predmet diskusije i odluke multidisciplinarnog tima koji učestvuje u lečenju ovih pacijenata. Relativne zasluge hirurgije i zračne terapije su i dalje predmet rasprave ali još uvek nema dovoljno randomizovanih studija za potvrdu nekih zaključaka. DuBois i saradnici su pokazali da uprkos tome što nije pokazana signifikantna razlika u preživljavanju između modaliteta lokalnog lečenja ES, zračna terapija je povezana sa većim rizikom od lošije lokalne kontrole

U poslednjoj analizi EICES-92 studije koji je objavljen 2018 godine, dve nacionalne kliničke grupe Velike Britanije i Nemačke su pojedinačno analizirale rezultate gde su uočene neočekivane razlike u preživljavanju, OS i EFS, između dve grupe pacijenata koje su randomizovane.

Tumori koji su neoperabilni se najčešće lokalno leče samo primenom zračne terapije i ti tumori su često udruženi i sa drugim nepovoljnim parametrima kao što je npr. veličina tumora. Veća incidencija lokalnog relapsa kod pacijenata iz nemačkog trajala CCLG ukazuje na to da možda izbor pacijenata za određeni modalitet lokalnog lečenja nije bio adekvatan.

Kao jedini modalitet lokalne kontrole primarnog tumora u našoj studiji, hirurgija je sprovedena kod 22.43% pacijenata što je identično procentu pacijenata kod kojih je sprovedena samo zračna terapija, dok su kod više od polovine pacijenata (51.4%) kao vid lokalnog lečenja primenjena oba modaliteta lokalnog lečenja (hirurgija i zračna terapija). Lokalni recidiv bolesti je dijagnostikovao kod 6.54 % pacijenata dok je relaps bolesti koji je podrazumevao postojanje lokalnog recidiva i udaljenih metastaza dijagnostikovao kod 20.56% pacijenata. Kod 3/7 pacijenata sa prisutnim lokalnim relapsom sprovedena je samo zračna terapija dok su kod ostalih sprovedena oba modaliteta a u grupi pacijenata sa dijagnostikovanim i lokalnim i udaljenim relapsom, samo zračna terapija je sprovedena kod 8 pacijenata a oba modaliteta su primenjena kod 10 pacijenata.

Analizom ukupnog preživljavanja kod ove tri grupe pacijenata uočena je razlika u ukupnom preživljavanju po nivoima tip lokalne kontrole a daljom analizom kombinacija lokalnog lečenja dobili smo da su naši pacijenti koji su operisani kao i oni koji su kao vid lokalnog lečenja imali i hirurgiju i zračnu terapiju u odnosu na one koji su samo zračeni imali značajno bolje ukupno preživljavanje kao što je pokazala i analiza preživljavanja bez događaja.

Ne postoji puno utvrđenih prognostičkih biomarkera za ovu agresivnu vrstu tumora. U našoj studiji, s obzirom na mali broj analiziranih pacijenata, dobijeni rezultati su prikazani kroz srednju vrednost i medijanu.

U odnosu na srednju vrednost, pokazana je dvostruko viša ekspresija TGFB1 kod pacijenata sa lokalizovanom u odnosu na pacijente sa metastatskom bolešću (0,84 vs. 0,47). Slično se uočava i ako se posmatra medijana (0,62 vs. 0,30). Povišena ekspresija TGFB1 u tumorima je obično povezana sa lošijom prognozom. Nasuprot tome, povišena ekspresija TGFB1 u ćelijama periferne krvi može biti pokazatelj boljeg ishoda bolesti.

Ispitivanjem uticaja pojedinih prognostičkih parametara (uzrast, lokalizacija tu promene, veličina tumora, vrednost s-LDH, stadijum bolesti, histopatološki odgovor na primenjenu neoadjuvantnu (preoperativnu) hemioterapiju na ukupno preživljavanje i na preživljavanje bez događaja utvrdili smo da su lokalizovan oblik bolesti, uzrast ispod 14 godina, normalan nivo s-LDH, veličina tumora manja od 8 cm kao i dobar histopatološki odgovor na primenjenu neoadjuvantnu hemioterapiju prognostički pokazatelji povoljnijeg ishoda bolesti u ovoj studiji.

Shodno navedenom, moguće je identifikovati pacijente koji pripadaju grupi visokog ili standardnog rizika, odnosno pacijente kod kojih se može očekivati nepovoljan odnosno povoljan ishod. Od budućih protokola se očekuje da pacijenti grupe visokog rizika ciljano dobijaju intenzivniju terapiju kao i nove tipove terapije dok se za pacijente standardnog rizika očekuje modifikacija lečenja u cilju smanjenja kasnih posledica onkološkog lečenja. Zbog svega toga su neophodne nove internacionalne randomizovane studije, stratifikovane na osnovu karakteristika pacijenata.

## **D) Objavljeni radovi koji čine deo doktorske disertacije**

Lejla Paripović, Vesna Ilić, Marija Pudrlja Slović, Jelena Bokun, Predrag Ćirković, Aleksandar Djordjević, Jelena Sopta, Dragana Vujić, Milan Sarić, Marina Nikitović. Treatment results of childhood Ewing sarcoma of the bone in Serbia. JBUON 2018; vol 23, no 5 issue.

## **E) Zaključak (obrazloženje naučnog doprinosa)**

Doktorska disertacija „**Značaj kliničkih, biomolekularnih i patoloških parametara za prognozu Ewing sarkoma kosti kod dece**”, Dr Lejle Paripović, značajna je i aktuelna i u potpunosti predstavlja originalni naučni doprinos u istraživanjima koja se odnose na lečenje dece i omladine sa koštanim Ewing sarkomom. Ovo istraživanje je uključilo do sada najveću i prvi put na ovaj način obrađenu kohortnu seriju dece obolele od Ewing sarkoma lečenih u Srbiji. Pored do sada primenjivanih kriterijuma za planiranje terapije, očekivani rezultati studije o prognostičkom značaju kliničkih, biomolekularnih i patoloških parametara kod dece obolele od Ewing sarkoma će omogućiti bolju stratifikaciju pacijenata u prognostičke grupe (standardni rizik, visoki rizik) i u zavisnosti od toga će se planirati optimalna terapija. Deca iz grupe pacijenata sa standardnim rizikom će primiti manje agresivnu terapiju čime će se dobri rezultati preživljavanja održati ali će se poboljšati kvalitet života. Kod pacijenata sa procenjenim visokim rizikom bolesti će se primeniti agresivniji terapijski protokol.

U navedenom periodu do 2014. godine sakupljen je značajan broj pacijenata kod kojih je učinjena analiza značaja prognostičkih parametara a čijom analizom se mogu dobiti podaci o uticaju istih na prognozu Ewing sarcoma kosti kod dece u našoj sredini i uporediti sa podacima objavljenim od strane referentnih svetskih centara. Podaci dobijeni ovim istraživanjem predstavljajuće analizu uticaja kliničkih, biomolekularnih i patoloških prognostičkih parametara na prognozu Ewing sarkoma kosti kod dece. Očekuje se da ova doktorska disertacija doprinese boljem lečenju dece obolele od Ewing sarkoma kosti i bude osnova za dalja istraživanja u oblasti pedijatrijske onkologije.

Ova doktorska disertacija je urađena prema svim principima naučnog istraživanja. Ciljevi su bili precizno definisani, naučni pristup je bio pažljivo izabran, a metodologija rada je bila savremena. Rezultati su pregledno i sistematično prikazani i diskutovani, a iz njih su izvedeni odgovarajući zaključci.

Na osnovu svega navedenog i imajući u vidu dosadašnji naučni rad kandidata, komisija predlaže Naučnom veću Medicinskog fakulteta u Beogradu da prihvati doktorsku disertaciju Dr Lejle Paripović i odobri njenu javnu odbranu radi sticanja akademske titule doktora medicinskih nauka.

U Beogradu, 27.06.2018.

Članovi komisije:

Prof. dr Dragana Vujić

---

Prof. dr Lidija Dokmanović Krivokapić

---

VNS dr sc Radmila Janković

---

Mentor:

Prof.dr Marina Nikitović