

NAUČNOM VEĆU MEDICINSKOG FAKULTETA  
UNIVERZITETA U BEOGRADU

Na sednici Naučnog veća Medicinskog fakulteta u Beogradu, održanoj dana 09.11.2017. godine, broj 5940/13, imenovana je komisija za ocenu završene doktorske disertacije pod naslovom:

**„Prognostički faktori i savremeni terapijski pristup lečenju pacijenata obolelih od multififormnog glioblastoma “**

kandidata dr Rosande Ilić, zaposlene u Klinici za neurohirurgiju Kliničkog centra Srbije u Beogradu. Mentor je Prof. dr Danica Grujičić. Komentor je VNS Eleonora Džoljić

Komisija za ocenu završene doktorske disertacije imenovana je u sastavu:

1. Prof. dr Branko Đurović, profesor Medicinskog fakulteta u Beogradu
2. Prof. dr Marina Nikitović, profesor Medicinskog fakulteta u Beogradu
3. Prof. dr Tomislav Cigić, profesor Medicinskog fakulteta u Novom Sadu

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

**IZVEŠTAJ**

**A) Prikaz sadržaja doktorke disertacije**

Doktorska disertacija dr Rosande Ilić napisana je na ukupno 250 strana i podeljena je na sledeća poglavlja: uvod, ciljevi rada, materijal i metode, rezultati, diskusija, zaključci i literatura. U disertaciji se nalazi ukupno 20 tabela, 63 grafikona i 37 slika. Doktorska disertacija sadrži sažetak na srpskom i engleskom jeziku, biografiju kandidata, i podatke o komisiji.

**Uvod** sadrži 11 celina koje obuhvataju epidemiologiju, patologiju, genetiku, kliničku sliku, dijagnostičke procedure, principe hirurškog lečenja, principe zračne i hemioterapije, procenu odgovora na terapiju, lečenje recidiva glioblastoma, kao i potencijalne terapijske mete i buduće perspektive. Dati epidemiološki podaci prikazuju rasprostranjenost ove bolesti na teritoriji Evrope, kao i u svetu, kao i postojanje potencijlnih faktora rizika. Data je detaljna patohistološka definicija, prema WHO klasifikaciji iz 2007.g., koja je bila važeća u vreme

izvođenja studije, kao i osvrt na promene koje su uvedene novom klasifikacijom. Osnovni patohistološki podtipovi su izdvojeni, i prikazani autentičnim slikama preparata pacijenata koji su operisani u Klinici za nerohirurgiju. Navedeni su najvažniji genetski faktori povezani sa tumorogenezom glioblastoma. Nakon toga je dat uvid u kliničku sliku ove bolesti, kao i osnovne i napredne dijagnostičke procedure. Jasno su prikazani principi hirurškog lečenja koji se primenjuju kako u svetu, tako i u Klinici za neurohirurgiju, gde je sprovedeno istraživanje. Istaknut je značaj hirurškog lečenje, koje predstavlja prvi korak u lečenju glioblastoma i obezbeđuje optimalne uslove za nastavak lečenja. Prikazani su principi zračne i hemioterapije, kao i procene terapijskog odgovora. Navedene su terapijske opcije za lečenje recidiva glioblastoma, sa posebnim osvrtom na potencijalne terapijske mete i buduće perspektive.

**Ciljevi rada** su precizno definisani. Sastoje se u određivanju procenta dvogodišnjeg preživljavanja i proceni faktora koji utiču na dužinu preživljavanja. Posebno su izdvojene procena uticaja radikalnosti hirurške intervencije i vrste hemioterapije koji je pacijent dobijao na preživljavanje, kao i uticaj reoperacije i druge linije hemioterapije na preživljavanje naakon pojave recidiva. Takođe je kao cilj postavljeno definisanje pseudoprogresije.

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 474 reference

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

Ovom studijom je obuhvaćeno ukupno 110 pacijenata koji su operisani zbog multiformnog glioblastoma na odeljenju neuroonkologije u vremenskom periodu od tri godine ( počevši od 1. januara 2010.g. do 31. decembra 2012.g. ). Od ukupnog broja pacijenata 66 ( 60%) su bili muškarci a 44 ( 40%) su bile žene. Najstariji pacijent imao je 71 godinu, a najmlađi 21 godinu. Srednja starost 54,3 godine. Starost pacijenta je statistički visoko značajno uticala na dužinu preživljavanja. Analiza dužine preživljavanja do progresije je pokazala da je vreme do progresije takođe značajno duže kod mlađih pacijenata. Trajanje tegoba je kod većine pacijenata bilo kratko. Kod 43,6% pacijenata tegobe su do postavljanja dijagnoze trajale kraće

od nedelju dana. Najčešći simptom u ovoj seriji bila je glavobolja, kod 79,1% pacijenata. Epilepsija se u preoperativnom toku javila kao simptom kod 25,5%, a više od polovine pacijenata je imalo pri prijemu znake psihoorganskog sindroma ( 53,6%). Većina je bila bez grubog ispada motorike (46,4%), ili sa diskretnom hemiparezom – GMS 4 (40,9%). Najučestalija lokalizacija bila je temporalni lobus, u 20.9% slučajeva, potom tumor koji zahvata 2 lobusa (prvenstveno frontalni i temporalni) u 20% , potom frontalna lokalizacija u 19,1% Pod totalnom, radikalnom, resekcijom, podrazumevalo se uklanjanje svih zona koje su se u T1 sekvenci MRI prebojavale kontrastom. Radikalnost resekcije tumora prema proceni hirurga i kontrolnom CT pregledu endokranijuma postignuta je u 70%, subtotalna resekcija 17,3%, parcijalna 11,8%, biopsija kod 0,9% pacijenata (1 pacijent), a preterapijski MRI, je pokazao da je procena stepena resekcije bila adekvatna, sa greškom od 7,6%, u proceni postojanja totalne resekcije. Stepen resekcije tumora je statistički značajno uticao na preživljavanje. Hirurške komplikacije su se javile kod 20% pacijenata. Od toga je bilo ukupno 11,9% hematoma u loži, od čega je 6,4% zahtevalo reoperaciju. Ukupan neposredni mortalitet je iznosio 2,7%. Kada se analizira preoperativni neurološki status u odnosu na postoperativni, on je bez promene kod 55,5% pacijenata, bolji kod 31,8% pacijenata a u pogoršanju kod 12,7% Kao skala za procenu postoperativnog stanja upotrebljena je ECOG PS. Postoperativni performantni status visoko statistički značajno utiče na vreme preživljavanja do progresije Svi preparati su analizirani u patohistološkoj laboratoriji Klinike za neurohirurgiju Kliničkog centra Srbije i na Institutu za patologiju Medicinskog fakulteta Univerziteta u Beogradu. Korišćeno je standardno hematoksilin eozin bojenje, a kod pojedinih pacijenata su upotrebljavane i imunohistohemijske metode. Kao posebni podtipovi su izdvojeni gliosarkom i glioblastom sa oligodendroglijalnom komponentom. Takođe je analizirno i prisustvo kalcifikacija u tumoru. Metilacioni status je bio poznat kod 56,4% pacijenata. Od ukupnog broja ispitanih pacijenata 45,1% je imalo metilisan MGMT promoter. Prosečno preživljavanje metilisanih pacijenata je bilo 22 meseca, a nemetilisanih 15, ali dalja analiza nije pokazala statistički značajne razlike u preživljavanju između metilisanih i nemetilisanih pacijenata. Zračna terapija u punoj dozi (60 Gy) je primenjena kod 97,3% pacijenata. Od ukupnog broja pacijenata 76,4% je dobijalo temozolomid, 16,4% je dobijalo BCNU a 7,3% nije dobijalo hemioterapiju. Kada se poredi preživljavanje pacijenata koji su dobijali temozolomid i BCNU statistički značajno je duže preživljavanje pacijenata koji su dobijali temozolomid. Vreme do progresije se nije statistički značajno razlikovalo u ove dve grupe. Kada je u pitanju tolerisanje hemioterapije, profil toksičnosti temozolomida je dobar. Kod pacijenta u ovoj studiji prema protokolu je prvi postoperativni – baseline MR pregled endokranijuma rađen pre

početka zračenja, potom 4-6 nedelja nakon završetka zračne terapije i nakon toga u zavisnosti od kliničkog stanja pacijenta na 3 meseca, ili češće. Pseudoprogresija je definisana kao novo prebojavanje kontrastom u zračnom polju, nakon završetka hemoiradijacije, za koje se naknadnim praćenjem ustanovilo da nije dalje progrediralo na prvom narednom MR pregledu endokranijuma. Pseudoprogresija se javila kod 18,2% pacijenata. Progresija je identifikovana kod 93,6% pacijenata u toku perioda praćenja, od toga je preživljavanje bez progresije (PFS) nakon 6 meseci 69%, nakon 12 meseci 35,8 %, a nakon 24 meseca samo 17%. Srednje vreme do progresije za celu ispitivanu grupu je bilo 9 meseci. Nakon identifikovanja postojanja progresije kao prvi korak je razmatrana mogućnost reoperacije.

Procenat reoperisanih pacijenata iznosi 30,9%. Najkraće vreme između operacije i reoperacije u našoj seriji je bilo 3 meseca, a najduže 43 meseca. Srednje vreme koje je proteklo između operacije i reoperacije je 14, 5 meseci. Najčešće se radilo o lokalnom recidivu, kod 82,35%, ali se kod 14,7% pacijenata radilo o udaljenom recidivu, a kod 1 pacijenta o multicentričnom recidivu.

Za procenu veličine tumora rađena je kalkulacija na osnovu preporučene matematičke formule  $\frac{4}{3}\pi r_1 r_2 r_3$ , koja podrazumeva da je tumor približno oblika sfere, a  $r_1$ ,  $r_2$  i  $r_3$  predstavljaju prečnike promene u aksijalnoj, sagitalnoj i koronarnoj ravni, merene uz pomoć RadiAnt DICOM viewera. Srednja zapremina tumora je bila  $99\text{cm}^3$ . Od ukupnog broja reoperisanih pacijenata kod 70,59 % na osnovu procene hirurga i postoperativnog CT pregleda endokranijuma postignuta totala resekcija tumora, kod 20,58 % subtotalna resekcija tumora. Učestalost hirurških komplikacija je bila 5,8%. Postoperativni neurološki i ECOG PS su postoperativno bili bez promene u odnosu na pre reoperacije, što znači da nije bilo neurološkog pogoršanja nakon reoperacije. Srednje preživljavanje nakon reoperacije iznosi 7,5 meseci, najkraće je 1 mesec, a najduže 51 mesec .

Kao prediktor preživljavanja pacijenata nakon reoperacije predložen je NIH skor, koji podrazumeva kombinaciju Karnofskog indeksa pre reoperacije, zapremine tumora i MSM skora. Analizom preživljavanja nakon reoperacije ustanovljeno je da NIH skor ima značajan uticaj, pacijenti iz grupe niskog rizika imaju prosečno preživljavanje nakon reoperacije 18 meseci, iz grupe srednjeg rizika 8 meseci, a iz grupe visokog rizika 3 meseca. Pacijenti koji su operisani nakon progresije imaju duže preživljavanje. U najvećem broju je u drugoj liniji hemioterapije primenjivan BCNU. Postiradijaciona leukoencefalopatija se javila kod 20 % pacijenata. Nije bilo postiradijacione leukoencefalopatije kod pacijenata mlađih od 50

godina. Šestomesečno preživljavanje u celoj kohorti bilo je 96,2%, jednogodišnje 81%, a ukupno dvogodišnje preživljavanje je u našoj studiji 27,4%. Petogodišnje preživljavanje je 7,3%. Posebno je zbog poređenja sa svetskim serijama izdvojeno srednje preživljavanje pacijenata koji su dobijali temozolomid, koje je bilo 20 meseci, a grupa koja je dobijala BCNU, 14 meseci. Srednje preživljavanje u celoj kohorti bilo je 17 meseci, minimalno 2 meseca, maksimalno 72 meseca. Kao nezavisni prognostički faktori dužeg preživljavanja do progresije i ukupnog preživljavanja su se izdvojili starost pacijenta, mlađi pacijenti imaju značajno kraće vreme do progresije i ukupno preživljavanje, kao i stepen resekcije tumora, totalna resekcija tumora produžava preživljavanje do progresije, kao i ukupno preživljavanje.

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

U ovom radu dati su rezultati lečenja pacijenata sa multiformnim glioblastomom na odeljenju neuroonkologije Klinike za neurohirurgiju Kliničkog centra Srbije. Svi pacijenti su operisani od strane jednog neurohirurškog tima koji čini 4 neurohirurga, što je posebno bitno jer obezbeđuje jednobraznost hirurškog rada i hirurške tehnike. S obzirom da temozolomid, koji od 2004.g. predstavlja standard za lečenje pacijenata sa glioblastomom u svetu, nije bio primenjivan u Srbiji do 2011.g. jedan broj pacijenata u ovoj studiji nije dobio temozolomid, što je omogućilo da se bez randomizacije poredi njegov efekat sa ranije primenjivanim standardnim tretmanom ( BCNU/CCNU). Takođe, u ovoj studiji su dati prvi rezultati primene temozolomida u našoj zemlji. Epidemiološke karakteristike ispitanika studije, kao i klinička slika nisu odudarale od svetskih serija. Stopa neurološkog pogoršanja nakon operacije je bila 12,7%. U seriji McGirta i saradnika procenat motornog pogoršanja znosi 6%, a pogoršanja govora 5%, što je ukupno 11% i približno rezultatima ove serije. Glioma Outcome Project u koji je uključeno 408 pacijenata sa malignim gliomima ima učestalost neurološkog pogoršanja od 8%, što je nešto manje, dok Gulati i saradnici u svojoj seriji od 141 pacijenta imaju procenat neurološkog pogoršanja od 15,3%. Osnovni cilj, u smislu daljeg unapređenja rezultata hirurškog lečenja, što kasnije utiče i na preživljavanje, je da se smanji procenat pacijenata kod kojih je došlo do neurološkog pogoršanja nakon operacije, što je i postignuto nakon uvođenja neuromonitoringa. Operacija, iako ne dovodi do potpunog izlečenja, ostaje i dalje kritična komponenta u lečenju novodijagnostikovanog glioblastoma. Za sada ne postoji studija nivoa dokaza I koja pokazuje da li totalna resekcija glioblastoma poboljšava preživljavanje, a s obzirom na to da bi randomizovana studija bila neetička, ovaj nivo dokaza nije moguće ostvariti. Do sada ima nekoliko studija koje imaju dokaze nivoa II da totalna resekcija poboljšava preživljavanje. U prospektivnoj studiji 124 pacijenta sa

novodijagnostikovanim glioblastomom, Brown i saradnici su pokazali da totalna hirurška resekcija poboljšava preživljavanje i kvalitet života. U maloj prospektivnoj studiji Schneider i saradnici su pokazali da kompletna resekcija glioblastoma više nego duplo produžava srednje preživljavanje, bez značajnog uvećanja morbiditeta. U analizi McGirta i saradnika je stepen resekcije nezavisni parametar za produžetak preživljavanja pacijenata sa glioblastomom. Rezultati ove serije su u korelaciji sa navedenim. Ukupan neposredni mortalitet je iznosio 2,7%. Mortalitet je u starijim studijama, pre 1990.g. bio veći, ali u novijim studijama opada, na prvom mestu zbog tehničkih poboljšanja u izvođenju operacije i sada se kreće oko 1,7%. Ova učestalost je veća kod starijih pacijenata sa lošim Karnofki indeksom. Uvođenje u rutinsku kliničku praksu Stuppovog protokola, koji se sastoji od zračne terapije, sa konkomitantnom primenom temozolomida i nako toga adjuvantnom primenom temozolomida do 6 ciklusa, dalje je poboljšalo preživljavanje sinergističkim delovanjem temozolomida i zračne terapije Kao što je pokazano u randomizovanim studijama European Organisation for Research and Treatment of Cancer i National Cancer Institute of Canada ukupno preživljavanje je duže kod pacijenata koji su primali Stuppov protokol u poređenju sa pacijentima koji su samo zračeni ( 14,6 naspram 12.1 meseci). Rezultati naše serije potvrđuju ove rezultate, pokazujući duže preživljavanje kod pacijenata koji su dobijali Stuppov protokol, 19 meseci, naspram 13 meseci, kod pacijenata koji su dobijali RT sa BCNU/CCNU (Log rank  $p=0.016$ ). Kada je u pitanju preživljavanje do progresije, ono je bilo 11 meseci u temozolomid grupi, a 9 meseci u BCNU/CCNU grupi, tako da razlika nije dostigla statističku značajnost. U pogledu ukupnog preživljavanja, jasna prednost temozolomida u poređenju sa derivatima nitrozouree je u skladu sa podacima iz literature i pokazuje značaj uvođenja ovog leka kao prve linije hemioterapije u lečenju glioblastoma u Srbiji. Izostanak statističke značajnosti na preživljavanje do progresije može se objasniti značajem drugih faktora, kao što su stepen hirurške resekcije i genetika tumora. Prema MacDonaldovim kriterijumima uvećanje prebojavanja kontrastom veće od 25% se smatra progresijom i nakon toga bi trebalo pristupiti promeni tretmana Jedna od najvećih promena u Response Assesment in Neuro-Oncology ( RANO) kriterijumima je prepoznavanje radiološkog kriterijuma pseudoprogresije Pseudoprogresija je u našoj studiji definisana kao novo prebojavanje kontrastom u zračnom polju, nakon završetka hemoiradijacije, za koje se naknadnim praćenjem ustanovilo da nije dalje progrediralo na prvom narednom MR pregledu endokranijuma, na osnovu RANO kriterijuma, s tim što su u našoj seriji, kao i mnogim drugim obuhvaćeni i pacijenti koju su imali stabilan nalaz, dok RANO definicija podrazumeva regresiju. Pseudoprogresija se javila kod 18,2% pacijenata. S obzirom na to da incidenca pseudoprogresije u literaturi izrazito

varira, od 12-64%, naši rezultati se nalaze u okviru objavljenih. U zadnje vreme objavljene su studije koje pokazuju da reoperacija može biti sprovedena sa prihvatljivim rizikom i dovesti do pobošljanja funkcije i produžetka preživljavanja. Nakon identifikovanja postojanja progresije kao prvi korak u našoj seriji je razmatrana mogućnost reoperacije. Procenat reoperisanih pacijenata iznosi 30,9%, što je nešto više nego u seriji Barkera i saradnika. Srednje vreme koje je proteklo između operacije i reoperacije je 14,5 meseci. U poređenju sa serijama iz literature gde ovo vreme iznosi od 6,6 do 11,1 mesec ono je nešto duže. Kao model za predikciju preživljavanja nakon reoperacije je uzet NIH skor. I pored navoda u literaturi o visokom riziku od dodatnog neurološkog oštećenja nakon reoperacije glioblastoma, naši rezultati su u potpunosti u suprotnosti sa ovim. Prema našim iskustvima u trenutku recidiva tumor je obično jasnije demarkiran, kao posledica postterapijske izmenjenosti, što omogućava jasnije margine resekcije. U poređenju sa rezultatima Parka i saradnika, naše preživljavanje je nešto duže. Ne postoji saglasnost u literaturi vezano za protokol konzervativnog lečenja recidiva. U našoj seriji je u drugoj liniji hemioterapije primenjivan BCNU. Kada je u pitanju druga linija hemioterapije poređenje sa rezultatima inostranih serija je teško, s obzirom na to da lekovi koji se primenjuju u inostranstvu nisu dostupni u Srbiji. Temozolomid ostaje okosnica hemoterapije koja se primenjuje u vreme relapsa u inostranstvu. Rezultati ove serije su poređeni sa serijom Stuppa i saradnika, koja je nakon objavljivanja, 2005.g. postala osnova za uvođenje temozolomida, kao prve linije hemioterapije u lečenju glioblastoma i koja i danas predstavlja referentnu seriju i osnovu za dalja ispitivanja. Rezultati ove serije su bolji (temozolomid podgrupa 19 meseci) u poređenju sa Stuppovom serijom, gde je srednje preživljavanje 14,6 meseci, Populacija Stuppove serije je sličnih karakteristika u odnosu na našu, kada su u pitanju godine starosti i pol, ali postoji jasna razlika u stepenu resekcije, gde u našoj seriji nije bilo pacijenata kod kojih je rađena biopsija, a procenat radikalno operisanih pacijenata je u našoj seriji značajno veći (procenat radikalno operisanih pacijenata je u Stuppovoj seriji 40, odnosno 39%, dok je u našoj 71, odnosno 70 procenata). Na osnovu ovoga se može zaključiti da je duže preživljavanje naših pacijenata posledica radikalnijeg hiruškog pristupa, što je posebno potencirano u grupi pacijenata koji su dobijali temozolomid.

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

Rosanda Illic, Teresa Somma, Dragan Savic, Federico Frio, Mihailo Milicevic, Domenico Solari, Marina Nikitovic, Slobodan Lavrnic, Savo Raicevic, Snezana Milosevic, Luigi Maria Cavallo, Paolo Cappabianca, Danica Grujicic. **A Survival Analysis with**

**Identification of Prognostic Factors in a Series of 110 Patients with Newly Diagnosed Glioblastoma Before and After Introduction of the Stupp Regimen: A Single-Center Observational Study** World Neurosurgery (2017) 104: 581-588

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

Doktorska disertacija „Prognostički faktori i savremeni terapijski pristup lečenju pacijenata obolelih od multifornog glioblastoma “ dr Rosande Ilić, predstavlja prvi rad koji je prikazao rezultate lečenja pacijenata sa glioblastomom, nakon uvođenja temozolomida kao standardnog leka u Srbiji. Glioblastom je izuzetno agresivan tumor, za koji i pored intenzivnih aktivnosti na polju bazične medicine još uvek nije otkrivena adekvatna terapija, a uvođenje temozolomida u lečenje ove vrste tumora je dovelo do manjeg, ali značajnog pomaka u preživljavanju. Ova studija je potvrdila da su rezultati lečenja pacijenata sa glioblastomom u našoj zemlji uporedivi sa inostranstvom. Potvrđena je razlika u preživljavanju nakon uvođenja temozolomida. Dokazano je da pored godina starosti i stanja pacijenta na preživljavanje utiče i stepen resekcije, o čemu se u svetu i dalje vodi debata. Takođe rezultati ove serije su pokazali duže preživljavanje nego u referentnoj literaturi, što je rezultat radikalnijim hirurškog pristupa i većeg procenta radikalno reseciranih tumora. Dat je uvid i u terapijske opcije za lečenje recidiva, što je takođe i dalje pitanje oko kojeg nema slaganja u svetskoj literaturi. Doktorska disertacija predstavlja zbirne rezultate rada tima koji se bavi neuroonkologijom i predstavlja osnovu za dalje unapređenje u lečenju glioblastoma u Srbiji.

Ova doktorska disertacija je urađena prema svim principima naučnog istraživanja. Ciljevi su bili precizno definisani, naučni pristup je bio originalan i 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 Univerziteta u Beogradu da prihvati doktorsku disertaciju dr Rosande Ilić i odobri njenu javnu odbranu radi sticanja akademske titule doktora medicinskih nauka.

U Beogradu, 7. decembra 2017.



Članovi Komisije:

Prof. dr Branko Đurović

---

Prof. dr Marina Nikitović

---

Prof. dr Tomislav Cigić

---

Mentor:

Prof.drD.Grujičić

---

Komentor:

Prof.drEleonoraDzoljić

---