

NAU NOM VE U MEDICINSKOG FAKULTETA  
UNIVERZITETA U BEOGRADU

Na sednici Nau nog ve a Medicinskog fakulteta u Beogradu, održanoj dana 04.07.2017. godine, broj 5940/11, imenovana je komisija za ocenu završene doktorske disertacije pod naslovom:

**„ Korelacija bioloških markera sa odgovorom na preoperativnu radioterapiju lokalno odmaklog neinflamatornog karcinoma dojke“**

kandidata dr Jasmine Mladenovi , zaposlene u Institutu za onkologiju i radiologiju Srbije u Beogradu. Mentor je Prof. dr Vesna Plešinac Karapandži , komentor je N.Sar. dr Snežana Šušnjar, Institut za onkologiju i radiologiju Srbije.

Komisija za ocenu završene doktorske disertacije imenovana je u sastavu:

1. Prof.dr Radan Džodi , profesor Medicinskog fakulteta u Beogradu
2. Doc. dr Marina Nikitovi , docent Medicinskog fakulteta u Beogradu
3. VNS dr Radmila Jankovi , Institut za onkologiju i radiologiju Srbije

Na osnovu analize priložene doktorske disertacije, komisija za ocenu završene doktorske disertacije jednoglasno podnosi Nau nom ve u Medicinskog fakulteta slede i

### **IZVEŠTAJ**

#### **A) Prikaz sadržaja doktorske disertacije**

Doktorska disertacija Dr Jasmine Mladenovi napisana je na ukupno 143 strana i podeljena je na slede a poglavlja: uvod, ciljevi rada, materijal i metode, rezultati, diskusija, zaključci i literatura. U disertaciji se nalazi ukupno 49 tabela, 45 grafikona i 9 slika. Doktorska disertacija sadrži sažetak na srpskom i engleskom jeziku, biografiju kandidata, podatke o komisiji i spisak skra enica koriš enih u tekstu.

U **uvodu** su ukratko opisani epidemiološki podaci i klini ka slika lokalno odmaklog karcinoma dojke, uz prikaz TNM klasifikacije i metoda dijagnostikovanja. Takodje je

prikazana i biološka klasifikacija karcinoma dojke. Navedeni su principi savremenog le enja, koje podrazumeva inicijalnu primenu neoadjuvantne sistemske terapije (hemioterapije, hormonske i biološke terapije), kao i primenu hirurgije u vidu radikalne mastektomije ili poštudne operacije. U potpunosti je opisana uloga radioterapije u le enju LOKD. Dat je kratak osvrt na istorijat radioterapije u le enju LOKD, a posebno je izdvojeno mesto preoperativne radioterapije, koja se u prethodnim dekadama primenjivala kao inicijalna terapija. Detaljno su opisane savremene radioterapijske tehnike u le enju karcinoma dojke, kao i neželjeni efekti i komplikacije radioterapije. Navedeni su prognosti ki i prediktivni faktori u LOKD i povezanost bioloških karakteristika tumora sa odgovorom na neoadjuvantnu terapiju.

**Ciljevi rada** su precizno definisani. Sastoje se od ispitivanja povezanosti lokalnog odgovora tumora na preoperativnu RT sa ishodom bolesti (OS i DFS), kao i povezanosti bioloških markera (ER, PgR, HER-2, Ki-67...) u odnosu na odgovor tumora na preoperativnu RT i promena njihove ekspresije nakon primenjene radioterapije. Ispitivan je i uticaj inicijalnih karakteristika pacijenta i tumora na ishod bolesti i odgovor na preoperativnu radioterapiju. Takodje je kao cilj navedena i povezanost genske analize primarnog tumora sa odgovorom na preoperativnu RT.

U poglavlju **materijal i metode** navedeno je da se radi o analizi le enja preoperativnom radioterapijom pacijenata sa LOKD koje je sprovedeno u Institutu za onkologiju i radiologiju Srbije u periodu od 1997-2000. godine. Detaljno je opisan na in sprovođenja zra ne terapije, kao i kriterijumi evaluacije odgovora na radioterapiju i klini ka i patohistološka procena odgovora tumora. Takodje je opisana metodologija odredjivanja ER i PgR, HER-2 statusa i Ki-67 iz primarnog tumora, kao i metode merenja genske ekspresije u uzorcima inicijalnog tumora dojke. Opisana je i definicija ishoda bolesti i statisti ka analiza podataka.

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.

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

Koriš ena **literatura** sadrži spisak od 183 reference.

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

U analizu je uključeno 134 bolesnica sa LOKD koje su lezene preoperativnom RT i potom radikalnom mastektomijom. Patohistološka kompletna regresija tumora u dojci na preoperativnu RT postignuta je kod 15% bolesnica, dok je 6.7% bolesnica imalo kompletnu regresiju tumora u dojci i limfnih vorova u aksili (tpCR). Relaps bolesti, nakon srednjeg vremena praenja od 78.35 meseci, zabeležen je kod 61.9% bolesnica; od toga lokoregionalni relaps je registrovan kod 7.5% bolesnica. Tokom perioda praenja, 61.9% bolesnica je umrlo: 50% od karcinoma dojke, a 11.9% zbog drugih propratnih bolesti. Stope 5-godišnjeg i 10-godišnjeg ukupnog preživljavanja (OS) bile su 56% i 37.8%, dok su stope 5-godišnjeg i 10-godišnjeg preživljavanja bez znakova bolesti (DFS) bile 39.2% i 27%.

Bolesnice koje su imale klinički kompletnu regresiju tumora (cCR) na preoperativnu RT imale su statistički značajno bolje OS u odnosu na bolesnice sa postignutim parcijalnim odgovorom (cPR) i stabilizacijom bolesti (cSD). U grupi bolesnica kod kojih je radjena patohistološka procena odgovora na preoperativnu RT, nije dobijena statistički značajna razlika između onih sa postignutim pCR, pNCR, pPR i pNC, mada bolesnice sa pCR imaju duže OS i DFS u odnosu na ostale.

Analizom ishoda bolesti prema prognostičkim faktorima pokazano je da godine starosti i menopauzni status nisu imali uticaja na OS, DFS i DFI, a da je ustanovljena razlika u pogledu kliničkog odgovora tumora na preoperativnu RT između pre i postmenopauznih bolesnica: veći procenat premenopauznih bolesnica je imao cPR u dojci, a skoro 1/3 postmenopauznih bolesnica je procenjena kao cSD. Nodalni status i veličina rezidualnog tumora nakon sprovedene preoperativne RT značajno su uticali na ishod bolesti. Negativni nalaz aksilarnih limfnih vorova povezan je sa značajno dužim OS, DFS i DFI u odnosu na pozitivni nalaz sa 1-3 limfna vora i 4 limfna vora. Takođe su bolesnice bez rezidualnog tumora imale značajno duži OS, DFS i trend ka dužem DFI u odnosu na one sa rezidualnim tumorom > 20 mm.

Kod 71 bolesnice određeni su biološki markeri ER, PgR, HER-2 i Ki-67 iz primarnog tumora, na osnovu čega su bolesnice bile klasifikovane u 4 molekularna podtipa. Zabeležena je značajnost biološke klasifikacije u odnosu na ukupno preživljavanje. Bolesnice sa luminal A tumorima imale su najduži OS u odnosu na ostale podtipove tumora. Prilikom analize odgovora tumora na preoperativnu RT, pokazano je da bolesnice sa trostruko negativnim tumorima imaju statistički značajno najveći procenat postignutog pCR i pNCR.

Takodje je zabeleženo da su bolesnice sa ER i PgR pozitivnim tumorima imale značajno duži OS u odnosu na ER i PgR negativne tumore. Međutim, kod ER i PgR negativnih tumora postignut je značajno veći procenat pCR i pNCR odgovora na preoperativnu RT u odnosu na ER i PgR pozitivne tumore. Analizom HER-2 statusa je utvrđeno da bolesnice sa HER-2 negativnim tumorima imaju značajno duži OS, DFS i DFI u odnosu na HER-2 pozitivne i HER-2 2+ tumore. HER-2 status nije imao uticaja na odgovor tumora na preoperativnu RT. Pokazano je da vrednost Ki-67 nije imala statistički značaj na OS, DFS i DFI, kao ni na odgovor tumora na preoperativnu RT.

Ispitivana je i promena vrednosti bioloških markera posle sprovedene preoperativne RT kod 74 bolesnice. Utvrđeno je da bolesnice sa pozitivnim ER i PgR i pre i posle preoperativne RT imaju značajno duže OS u odnosu na negativan nalaz steroidnih receptora ili promenjeni nalaz. U odnosu na odgovor tumora na preoperativnu RT zabeleženo je da su bolesnice sa ER i PgR negativnim tumorima i pre i posle RT imale procentualno veći postotak ostvarenih pCR i pNCR. Analizom HER-2 statusa pre i posle preoperativne RT nije zabeležena nijedna promena u HER-2 statusu. Bolesnice sa HER-2 negativnim tumorima imale su značajno duži OS, DFS i DFI, dok HER-2 status nije uticao na odgovor tumora na preoperativnu RT. Procenom vrednosti Ki-67 posle primenjene preoperativne RT je pokazano da su bolesnice sa niskim vrednostima Ki-67 i pre i posle RT imale duži OS u odnosu na bolesnice sa visokim vrednostima ili promenjenim vrednostima iz visoke u nisku. Vrednosti Ki-67 nisu imale uticaja na odgovor tumora na preoperativnu RT.

Analizom genske ekspresije primarnog tumora nadjena je jasna diferencijacija između non-respondera i respondera na PRT. Pokazane su značajne razlike u ekspresiji za APOA1 gen, dok su MAP3K4 i MMP14 geni ispoljili trend ka više od dva puta smanjenoj ekspresiji u radio-senzitivnim tumorima. Smanjena ekspresija MMP14 gena bila je značajno povezana sa boljim DFS.

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

U savremenoj literaturi ima vrlo malo podataka o rezultatima preoperativne RT kao inicijalne terapije LOKD. Jedna od retkih publikacija je rad francuskih autora (Riet i sar., 2017) koji su prikazali rezultate preoperativne RT nakon čega je sledila radikalna mastektomija i (Calitchi i sar., 2001) preoperativne RT primenjene u cilju sprovođenja poštedne operacije dojke. Naši

rezultati postizanja pCR na preoperativnu RT i lokalne kontrole su slični rezultatima francuskih autora, međutim stopa pojave relapsa bolesti je veća, a preživljavanje manje, što možemo objasniti većim brojem bolesnica sa N2 statusom u aksili u našoj studiji u odnosu na podatke iz literature.

Kako se danas preoperativna RT kao inicijalna terapija LOKD rutinski ne primenjuje, nešto više podataka u literaturi postoji o kombinaciji preoperativne HT i RT. Rezultati nekoliko studija koje su primenjivale konkomitantnu HT sa preoperativnom RT (Shanta i sar., 2008, Alvarado-Miranda i sar., 2009) kao i poredjenje kombinovane HT-RT sa samo preoperativnom RT (Shanta i sar., 1991, Semiglazov i sar., 1994) pokazali su viši procenat postizanja pCR u dojci (do 45%) kombinovanom HT-RT neoadjuvantnom terapijom. Takođe su zabeležene i veće stope OS i DFS-a.

Poznato je da pacijenti koji postignu pCR na neoadjuvantnu HT imaju veći DFS i OS u poredjenju sa non-responderima, što je pokazano u velikim internacionalnim neoadjuvantnim studijama (Cortazar i sar., 2014, von Minckwitz i sar., 2012). Samim tim se pCR pojavio kao novi prediktivni faktor ishoda bolesti i osnovni cilj svih neoadjuvantnih tretmana.

Kako je pored postizanja pCR-a, jedan od najvažnijih prognostičkih faktora posle primenjene neoadjuvantne terapije nalaz veličine rezidualnog tumora i status aksilarnih limfnih čvorova, pokazano je da ova dva parametra pozitivno koreliraju sa pojavom lokalnog recidiva (Buchholz i sar., 2002). Takođe je u analizi 7 neoadjuvantnih studija nemačkih autora (von Minckwitz i sar., 2012) utvrđeno da veliki rezidualni tumori (ypT3 i ypT4) kao i nalaz u aksili (ypN2 i ypN3) imaju najlošiju prognozu, što je pokazano i u našim rezultatima.

Imajući u vidu heterogenost karcinoma dojke, pokazano je da različiti biološki podtipovi tumora imaju različite verovatnoće pojave lokalnog recidiva (Langlands i sar., 2013), a da je ona najmanja kod luminal A podtipa, kod kojih adjuvantna RT značajno redukuje rizik za relaps, što je i potvrđeno u analizama DBCG trajala (Kyndi i sar., 2008) kod pacijenata nakon mastektomije i Harvardskoj analizi (Nguyen i sar., 2008) nakon poštedne operacije. U našoj analizi kliničkog i patohistološkog odgovora na preoperativnu RT je pokazano da trostruko negativni tumori imaju najveći procenat cCR i pCR, kao i pNCR. Slični rezultati su dobijeni i kod francuskih autora (Riet i sar., 2017) koji su analizirali preoperativnu RT, kao i posle primene neoadjuvantne HT, što je zabeleženo i u velikim neoadjuvantnim studijama (Cortazar i sar., 2014, von Minckwitz i sar., 2012, Wang i sar., 2016).

ER i PgR, kao prvi biološki markeri koji su ukazivali na prognozu bolesti i istovremenu predikciju odgovora na endokrinu terapiju, vrlo su malo ispitivani u vezi odgovora na RT. Naši rezultati su pokazali da je status steroidnih receptora značajno uticao na odgovor tumora

na preoperativnu RT, odnosno da su bolesnice sa negativnim ER i PgR imale veći i procenat postignutog pCR i pNCR. Slični podaci se mogu naći i u literaturi gde je procenjivan odgovor na neoadjuvantnu kombinovanu HT-RT (Alvarado-Miranda i sar., 2009 i Adams i sar., 2010). Uticaj HER-2 statusa na efekat primenjene RT je znatno manje ispitivan, ali se na osnovu prekliničkih podataka HER-2 pozitivnost tumora povezuje sa radiorezistencijom (Pietras i sar., 1999). U literaturi se mogu naći i izveštaji o povezanosti efekta RT i HER-2 statusa kod ranog karcinoma dojke (Kyndi i sar., 2008, Kim i sar., 2013) gde je pokazano poboljšanje u preživljavanju nakon postoperativne RT kod HER-2 negativnih pacijenata. U našoj analizi nije bilo statističke razlike u odgovoru na preoperativnu RT između HER-2 negativnih i pozitivnih tumora, ali je ipak pCR registrovan kod 12.3% bolesnica sa HER-2 negativnim tumorima i kod 0% bolesnica sa HER-2 pozitivnim tumorom. Ki-67 kao jedan od bioloških markera koji se najčešće koristi u kliničkoj praksi, može da korelira i sa odgovorom na neoadjuvantnu terapiju. Podataka o odgovoru na RT u zavisnosti od ekspresije Ki-67 nema, ali je pokazana povezanost visoke ekspresije Ki-67 sa boljim odgovorom na neoadjuvantnu HT (Fasching i sar., 2011, Juhasz-Boss i sar., 2014).

Preoperativna terapija karcinoma dojke je idealni model za evaluaciju prediktivne vrednosti promene ekspresije bioloških markera, imajući u vidu da se tumorsko tkivo može analizirati pre i posle primenjene terapije. U literaturi se analiza promene bioloških markera može naći uglavnom nakon primenjene neoadjuvantne HT (Adams i sar., 2008, Miglietta i sar., 2009, Dede i sar., 2013). Promene u statusu steroidnih receptora nisu bile statistički značajne, dok je postojalo značajno sniženje vrednosti Ki-67 nakon primenjene HT. Podaci o promeni HER-2 statusa su dosta različiti, pojedini autori su opisali povezanu ekspresiju HER-2 (Adams i sar., 2008), dok su drugi pokazali promenu iz pozitivnog u negativni (Neubauer i sar., 2008) ili nepromenjeni nalaz posle primenjene neoadjuvantne HT (Faneyte i sar., 2003).

Kako za sada ne postoje biološki markeri koji bi izdvojili pacijente sa pozitivnim ili negativnim odgovorom na RT, identifikacija gena koji se različito ekspimiraju kod radiosenzitivnih i radiorezistentnih pacijenata sa karcinomom dojke mogla bi biti metoda za predikciju odgovora na RT. Jedna takva analiza je sprovedena kod pacijenata koji su bili uključeni u dansku studiju u cilju predviđanja koristi od postoperativne RT nakon mastektomije, kojom prilikom je identifikovano 7 prediktivnih gena (Tramm i sar., 2014). U našoj analizi genske ekspresije pokazano je jasno razdvajanje između respondera i non-respondera na preoperativnu RT.

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

Jasmina Mladenovic, Snezana Susnjar, Miljana Tanic, Radmila Jankovic, Katarina Karadzic, Dusica Gavrilovic, Suzana Stojanovic and Vesna Plesinac Karapandzic. **Tumor response and patient outcome after preoperative radiotherapy in locally advanced non-inflammatory breast cancer patients.** JBUON 2017;22(2):325-333.

#### **E) Zaklju ak (obrazloženje nau nog doprinosa)**

Doktorska disertacija „Korelacija bioloških markera sa odgovorom na preoperativnu radioterapiju lokalno odmaklog neinflamatornog karcinoma dojke” Dr Jasmine Mladenovi predstavlja originalni nau ni doprinos u razumevanju uticaja bioloških markera na odgovor na preoperativnu radioterapiju u le enju LOKD. Na osnovu literaturnih podataka može se videti da su biološki markeri potencijalne radiorezistencije karcinoma dojka do sada uglavnom ispitivani kod ranog karcinoma dojke i pacijenata koji su primali adjuvantnu hemioterapiju i imali postoperativnu RT nakon poštedne operacije ili mastektomije. Takodje je vrlo malo podataka o ispitivanju bioloških markera kod lokalno uznapredovale bolesti, gde je le enje obi no kombinovano sa inicijalnom primenom hemioterapije, a potom je bila uklju ena radioterapija. Pored toga do sada je uglavnom ispitivana veza bioloških markera sa odgovorom na primenjenu hemioterapiju. Preoperativna RT kao jedini ved preoperativnog le enja LOKD kod nas se rutinski primenjivala u ranijem periodu i nije bila široko rasprostranjena u svetu, tako da prakti no ne postoje grupe pacijenata kod kojih bi se mogao ispitivati uticaj markera na RT bez upliva drugih terapijskih modaliteta. Time bi rezultati ovog istraživanja mogli da doprinesu boljoj selekciji pacijenata prilikom odlu ivanja o sprovođenju radioterapije, kako kod lokalno odmakle bolesti, tako i prilikom odluke o sprovođenju postoperativne radioterapije nakon mastektomije ili poštedne operacije ranog karcinoma dojke.

Ova doktorska disertacija je uradjena prema svim principima nau nog istraživanja. Ciljevi su bili precizno definisani, nau ni pristup je bio pažljivo izabran, a metodologija rada je bila savremena. Rezultati su pregledno i sistemati no prikazani i diskutovani, a iz njih su izvedeni odgovaraju i zaklju ci.

Na osnovu svega navedenog, i imaju i u vidu dosadašnji nau ni rad kandidata, komisija predlaže Nau nom ve u Medicinskog fakulteta u Beogradu da prihvati doktorsku disertaciju Dr Jasmine Mladenovi i odobri njenu javnu odbranu radi sticanja akademske titule doktora medicinskih nauka.

U Beogradu, 12.09.2017.

lanovi komisije:

Prof. dr Radan Džodi

---

Doc. dr Marina Nikitovi

---

VNS dr Radmila Jankovi

---

Mentor:

Prof.dr Vesna Plešinac Karapandži

---

Komentor:

N.Sar. dr Snežana Šušnjar

---