



Примљено: 28. 5. 2020

Орг. јед. | Број | Прилог

18 / 4. 11 / 20

## ИЗВЈЕШТАЈ *о оцјени урађене докторске дисертације*

### I ПОДАЦИ О КОМИСИЈИ

Наставно-научно вијеће Медицинског факултета Универзитета у Бањој Луци је на сједници одржаној дана 27.04.2020. године донијело одлуку број: 18/3.305/2020, о именовању Комисије за оцјену урађене докторске дисертације у саставу:

1. Др Крсто Јандрић, редовни професор, ужа научна област Интерна медицина, Медицински факултет Универзитета у Бањој Луци, предсједник,
2. Др Зденка Гојковић, ванредни професор, ужа научна област Онкологија и радиотерапија, Медицински факултет Универзитета у Бањој Луци, члан,
3. Др Шефика Умиханић, доцент, ужа научна област Пулмологија, Медицински факултет Универзитета у Тузли, члан.

### II ПОДАЦИ О КАНДИДАТУ

Лора (Душан) Новаковић Лацковић је рођена 22.06.1968. године у Љубљани, Република Словенија. Студијски програм медицине на Медицинском факултету Универзитета у Бањој Луци, кандидаткиња је завршила 1996. године, те стекла звање доктора медицине. Специјализацију из пнеумофтизиологије је завршила 2004. године на Медицинском факултету Универзитета у Бањој Луци. Усмјерену специјализацију из онкологије је завршила 2009. године на Медицинском факултету Универзитета у Новом Саду. На Медицинском факултету Универзитета у Бањој Луци, у децембру 2014. године, је одбранила магистарски рад из уже научне области: Интерна медицина, под називом: „Прогностички значај густине CD4+ и CD8+ Т-лимфоцита у немикроцелуларном карциному плућа“ и тиме стекла звање магистра медицинских наука.

### III УВОДНИ ДИО ОЦЈЕНЕ ДОКТОРСКЕ ДИСЕРТАЦИЈЕ

Наслов докторске дисертације Mr сц.др Лоре Новаковић Лацковић је:

„Прогностички значај густине CD4+ и CD8+ Т-лимфоциита у немикроцелуларном карциному плућа“

Тема докторске дисертације је прихваћена од стране Наставно-научног вијећа Медицинског факултета Универзитета у Бањој Луци дана 13.12.2016. године, одлуком број: 18/3.922/2016.

Сенат Универзитета у Бањој Луци је дана 14.03.2017. године, одлуком број: 18/3.181/2017, дао сагласност на Извјештај о оцјени услова и подобности теме за израду докторске дисертације на Медицинском факултету у Бањој Луци кандидаткиње Mr сц.др Лоре Новаковић Лацковић.

Садржјај докторске дисертације је изложен у сљедећим поглављима:

- 1) Увод (стр. 1-35),
- 2) Циљеви истраживања (стр. 36);
- 3) Хипотеза (стр. 37);
- 4) Материјал и методе (стр. 37-49);
- 5) Резултати (стр. 50-74);
- 6) Дискусија (стр. 75-99);
- 7) Закључци (стр. 100);
- 8) Литература (стр. 101-111).

Докторска дисертација је написана ћириличним писмом, фонтом Times New Roman, величина 12. Дисертација је написана на укупно 125 страница, формата А4. На почетку дисертације налази се 13 страна које нису нумерисане, а односе се на наслов дисертације, кључне медицинске информације (на српском и енглеском језику), кориштене скраћенице и садржај. Дисертација садржи 15 табела, 19 графика и 11 слика. Укупан фонд кориштене литературе чине 133 литературна извора.

**У првој цјелини** (стр. 1-35) истакнут је разлог због којег је истраживање проведено. Технолошке иновације и нова имуношкоца знања актуелизовала су причу о имунотерапији у онкологији јер пружају реалну могућност да имунотерапија оправда назив четвртог модалитета лијечења малигних тумора. Имуношкоци одговор у карциному плућа, као и у другим карциномима, обухвата ћелије урођеног и стеченог имунитета. Ћелије имуношкоца система чине: лимфоцити, антиген презентујуће ћелије и ефекторске ћелије. Цитотоксични Т-лимфоцити су главни механизми којим имуношкоци систем убија туморске ћелије и могуће их је доказати у већине болесника с примарним туморима различитог хистолошког типа. Истраживања неких тумора људи указују да је обилна инфильтрација цитотоксичних Т-лимфоција показатељ боље прогнозе клиничког тока болести од оскудне инфильтрације. У другој цјелини (стр. 36) су представљени прецизно постављени циљеви истраживања како би се обезбедиле информације о понашању тумора, његовом опстанку и одговору на лијечење. Основни циљеви се односе на процјену густине инфильтрације CD8+ и CD4+ Т-лимфоција у епителној и стромалној компоненти тумора пацијената са немикроцелуларним карциномом плућа те процјену повезаности густине инфильтрације CD8+ и CD4+ Т-лимфоција са терапијским одговором на стандардну онколошку терапију. Остали циљеви истраживања се односе на процјену повезаности инфильтрације CD4+ и CD8+ Т-лимфоција у односу на хистолошки подтипов немикроцелуларног карцинома плућа, пушачки статус као фактор хроничне инфламације у пацијената са немикроцелуларним карциномом плућа, те процјену повезаности густине инфильтрације CD4+ и CD8+ Т-лимфоција са временом до прогресије болести и временом преживљавања. У трећој цјелини (стр. 37.) је представљена хипотеза спроведеног истраживања која се односи на утицај нивоа тумор инфильтрујућих CD4+ и CD8+ Т-лимфоција у епителној и стромалној компоненти тумора. Предпоставља се да висок ниво тумор инфильтрујућих CD4+ и CD8+ Т-лимфоција у епителној и стромалној компоненти тумора (немикроцелуларни карцином плућа) утиче на бољи иницијални терапијски одговор на стандардну онколошку терапију након четири циклуса лијечења, те да пацијенти са високим нивоом тумор инфильтрујућих CD4+ и CD8+ Т-лимфоција у епителној и стромалној компоненти тумора (немикроцелуларни карцином плућа) имају дуже вријеме без знакова прогресије болести и дуже укупно преживљавање. У четвртој цјелини (стр. 37-49) је представљен материјал и основна методологија. У оквиру овог дијела детаљно је описана врста студије и испитаници, критеријуми укључивања и искључивања, класичне хистолошке методе као и имунохистохемијска метода. У наставаку сlijеди начин интерпретације имунохистохемијског бојења као и методологија процјене густоће инфламаторног инфильтрата, аналитичке процедуре и статистичка обрада података. Систематично је приказана дистрибуција узорка на којем је вршено истраживање, описане су методе за одређивање испитиваних параметара. Кориштене су адекватне статистичке методе за обраду добијених података. У оквиру пете цјелине (стр. 50-74) дисертације систематично су приказани резултати истраживања, богато илустровани графиконима и табелама. Кандидат је јасно, систематично и документовано изложио резултате и њихову анализу приказану кроз сва постављена питања. Резултати приказују демографске карактеристике испитаника, терапијски одговор на иницијалну терапију, терапијски одговор у односу на хистолошки подтипов тумора, стадијум болести, полну и старосну структуру, пушачки статус, густоћу инфильтрације CD4+ и CD8+ Т-лимфоција у епителној и стромалној компоненти тумора, те вријеме до прогресије болести и вријеме преживљавања у односу на густоћу инфильтрације CD4+ и CD8+ Т-лимфоција у епителној и стромалној компоненти тумора. Шеста цјелина (стр. 75-99) у овој дисертацији представљена је дискусијом добијених резултата истраживања и њиховим поређењем са већ постојећим сличним истраживањима у овој научној области. Кандидат вреднује сопствене резултате на основу литератуарних података и одабраних студија.

У седмој целини (стр. 100) ове дисертације сажета су сазнања и научне чињенице изнесене у оквиру дисертације, добијена на основу резултата истраживања и тестирања хипотезе. Осма целина (стр. 101-111) докторске дисертације односи се на списак кориштене литературе у оквиру спроведеног истраживања и израде дисертације. Анализа референци показује да је кандидат проучавао радове аутора, релевантних за тематику дисертације, из ранијег периода па све до најновијих.

## IV УВОД И ПРЕГЛЕД ЛИТЕРАТУРЕ

### 1) Разлог због којег је истраживање предузето, проблем, предмет, циљеви и хипотеза истраживања

У оквиру увода јасно су и логичним редољедом описаны основни појмови о проблему који се истражује, почевши од учсталости карцинома плућа, петогодишњег преживљавања оболелих, високог степена смртности, хистолошке подјеле и подтипове немикроцелуларног карцинома плућа те развоја терапије карцинома плућа. С обзиром на актуелизацију имунотерапије у онкологији, те радикалне промјене у схватању и објашњењу малигнитета неопходно је трагати за имуномаркерима који би помогли даљем разумевању имунолошког одговора у немикроцелуларном карциному плућа.

#### Основни циљеви истраживања су:

1. Процјена густине инфильтрације CD8+ и CD4+ Т-лимфоцита у епителној и стромалној компоненти тумора пацијената са немикроцелуларним карциномом плућа.
2. Процјена повезаности густине инфильтрације CD8+ и CD4+ Т-лимфоцита са терапијским одговором на стандардну онколошку терапију у пацијената са немикроцелуларним карциномом плућа.

#### Остали циљеви истраживања су:

1. Процјена повезаности инфильтрације CD4+ и CD8+ Т-лимфоцита и хистолошког типа немикроцелуларног карцинома плућа.
2. Процјена повезаности инфильтрације CD4+ и CD8+ Т-лимфоцита и пушачког статуса као фактора хроничне инфламације у пацијената са немикроцелуларним карциномом плућа.
3. Процјена повезаности густине инфильтрације CD4+ и CD8+ Т-лимфоцита са временом до прогресије болести и временом преживљавања.

На основу проблема, предмета и циљева истраживања, као и резултата претходних, сличних истраживања, постављена је хипотеза истраживања која гласи:

1. Пацијенти са високим нивоом тумор инфильтрујућих CD4+ и CD8+ Т-лимфоцита у епителној и стромалној компоненти тумора (немикроцелуларни карцином плућа) имају бољи иницијални терапијски одговор на стандардну онколошку терапију након четри циклуса лијења.
2. Пацијенти са високим нивоом тумор инфильтрујућих CD4+ и CD8+ Т-лимфоцита у епителној и стромалној компоненти тумора (немикроцелуларни карцином плућа) имају дуже вријеме без знакова прогресије болести и дуже укупно преживљавање.

### 2) Преглед претходних истраживања

Преглед релевантне литературе даје ширу слику теме докторске дисертације.

Размишљања о одређеној повезаности имунитета и тумора потичу с почетка XIX вијека. Нобеловац и аутор термина хемиотерапија, Паул Ерлих (Paul Ehrlich) је претпоставио да би имунолошки систем могао учествовати у отпорности домаћина против властитог тумора [1]. Бурнетова (Burnet) теорија о имунолошком надзору усмјерева бројна истраживања у туморској имунологији. Теорија претпоставља да имунолошки систем уклања трансформисане ћелије које великом учсталошћу настају у организму као резултат соматских мутација. Уклањање трансформисаних ћелија би у првом реду обављали лимфоцити овисни о тимусу [2]. Имунолошки систем чини скуп ћелија, ткива и молекула које посредују у отпорности, а њихова координисана реакција чини имунолошки одговор. Имунолошки одговор у карциному плућа, као и у другим карциномима, обухвата ћелије урођеног и стеченог имунитета [2,3,4]. У оба типа имунолошког одговора (урођени и стечени) имамо диференцијацију и умножавање лимфоцита [5]. Лимфоцити се разликују по површинским протеинима који се могу идентификовати панелима моноклоналних антитијела [6]. Врста имунолошких ћелија, њихова густина и локализација одређују начин дјеловања популације имунолошких ћелија које чине имунолошки систем [7]. У тумору могу бити присутни сви типови одбрамбених ћелија - макрофаги, неутрофилни гранулоцити, дендритичке ћелије, мастоцити, природне ћелије убице (NK) те Т и Б лимфоцити [8,9,10]. Двије главне групе Т лимфоцита учествују у спрегнутом препознавању туморско специфичних антигена [6,7,9]. То су: цитотоксични Т-лимфоцити (Tc или CD8+) и помоћнички Т-лимфоцити (Tr или CD4+).

Цитотоксични Т-лимфоцити су главни механизми којим имунолошки систем убија туморске ћелије. Специфично цитотоксичне Т-лимфоците (CTL) могуће је доказати у већине болесника с примарним туморима различитог хистолошког типа. Скорашње студије су разјасниле да је имун одговор резултат комплексне интеракције туморских и имуних ћелија. Данас смо свједоци радикалних промјена у схватању и објашњењу малигнитета, од тога да је то аутономна ћелијска болест која укључује биолошке способности до тога да је тумор посљедица нерегулисаног имунитета микроокружења [1,10]. На основу Шрајберових (Schreiber) студија о имунитету код мишева, које су јасно показале постојање имуношког надзора тумора, редефинисан је поглед на интеракцију имуношког одговора и тумора [10]. На почетку миленијума проведено је неколико ограничених студија о прогностичкој улози имуних ћелија у немикроцелуларном карциному плућа које су дале контрадикторне резултате [11,12,13,14]. Иако је улога Т-лимфоцита у антитуморском имуношком одговору добро документована, сви детаљи ангажовања ових ћелија и даље нису сасвим расвјетљени [15,16,17]. Објављено је 17 већих студија (узорак величине  $N > 200$ ) у којима се истражује прогностички утицај тумор инфильтрујућих лимфоцита у немикроцелуларном карциному плућа [18,19,20,21,22].

#### **Цитирана литература у прегледу претходних истраживања**

- [1] Dunn GP, Old LJ, Schreiber RD. The three Es of cancer immunoediting. *Annu Rev Immunol.* 2004;22:329–360.
- [2] Burnet M. Cancer: a biological approach. I. The processes of control. *Br Med J.* 1957;1:779–786.
- [3] Platonova S, Cherfils-Vicini J, Damotte D, et al. Profound coordinated alterations of intratumoral NK cell phenotype and function in lung carcinoma. *Cancer Res.* 2011;71:5412–5422.
- [4] Mittal D, Gubin MM, Schreiber RD, et al. New insights into cancer immunoediting and its three component phases—elimination, equilibrium and escape. *Curr Opin Immunol.* 2014;27:16–25.
- [5] So T, Takenoyama M, Mizukami M, et al. Haplotype loss of HLA class I antigen as an escape mechanism from immune attack in lung cancer. *Cancer Res.* 2005;65:5945–5952.
- [6] Galon J, Fridman WH, Pages F. The adaptive immunologic microenvironment in colorectal cancer: a novel perspective. *Cancer Res.* 2007;67:1883–1886.
- [7] Bremnes RM, Al-Shibli K, Donnem T, et al. The role of tumor-infiltrating immune cells and chronic inflammation at the tumor site on cancer development, progression, and prognosis: emphasis on non-small cell lung cancer. *J Thorac Oncol.* 2011;6:824–833.
- [8] Ganesan AP, Johansson M, Ruffell B, et al. Tumorinfiltrating regulatory T cells inhibit endogenous cytotoxic T cell responses to lung adenocarcinoma. *J Immunol.* 2013;191:2009–2017.
- [9] Vesalainen S, Lipponen P, Talja M, et al. Histological grade, perineural infiltration, tumour-infiltrating lymphocytes and apoptosis as determinants of long-term prognosis in prostatic adenocarcinoma. *Eur J Cancer.* 1994;30A:1797–1803.
- [10] Schreiber RD, Old LJ, Smyth MJ. Cancer immunoediting: integrating immunity's roles in cancer suppression and promotion. *Science.* 2011;331:1565–1570.
- [11] Ishibashi Y, Tanaka S, Tajima K, et al. Expression of Foxp3 in non-small cell lung cancer patients is significantly higher in tumor tissues than in normal tissues, especially in tumors smaller than 30 mm. *Oncol Rep.* 2006;15:1315–1319.
- [12] Dieu-Nosjean MC, Antoine M, Danel C, et al. Long-term survival for patients with non-small-cell lung cancer with intratumoral lymphoid structures. *J Clin Oncol.* 2008;26:4410–4417.
- [13] Yoshida N, Abe H, Ohkuri T, et al. Expression of the MAGE-A4 and NY-ESO-1 cancer-testis antigens and T cell infiltration in non-small cell lung carcinoma and their prognostic significance. *Int J Oncol.* 2006;28:1089–1098.
- [14] Gooden MJ, de Bock GH, Leffers N, et al. The prognostic influence of tumour- infiltrating lymphocytes in cancer: a systematic review with meta-analysis. *Br J Cancer.* 2011;105:93–103.
- [15] Dobrzanski MJ, Reome JB, Hylind JC, Rewers-Felkins KA. CD8-mediated type 1 antitumor responses selectively modulate endogenous differentiated and nondifferentiated T cell localization, activation, and function in progressive breast cancer. *J Immunol.* 2006 Dec 1;177(11):8191–201.
- [16] Ellyard JI, Simson L, Parish CR. Th2-mediated anti-tumour immunity: friend or foe? *Tissue Antigens.* 2007 Jul;70(1):1–1.
- [17] Smith CM, Wilson NS, Waithman J, Villadangos JA, Carbone FR, Heath WR, Belz GT. Cognate CD4(+) T cell licensing of dendritic cells in CD8(+) T cell immunity. *Nat Immunol.* 2004 Nov;5(11):1143–8.
- [18] Johnson SK, Kerr KM, Chapman AD, et al. Immune cell infiltrates and prognosis in primary carcinoma of the lung. *Lung Cancer.* 2000;27:27–35.
- [19] Donnem T, Hald SM, Paulsen EE, et al. Stromal CD8 $\beta$  Tcell Density-A Promising Supplement to TNM Staging in Non-Small Cell Lung Cancer. *Clin Cancer Res.* 2015;21:2635–2643.
- [20] Horne ZD, Jack R, Gray ZT, et al. Increased levels of tumor-infiltrating lymphocytes are associated with improved recurrence-free survival in stage 1A nonsmall-cell lung cancer. *J Surg Res.* 2011;171:1–5.

[21] Kilic A, Landreneau RJ, Luketich JD, et al. Density of tumor-infiltrating lymphocytes correlates with disease recurrence and survival in patients with large nonsmall-cell lung cancer tumors. *J Surg Res.* 2011;167:207–210.

[22] Schalper KA, Brown J, Carvajal-Hausdorf D, et al. Objective measurement and clinical significance of TILs in non-small cell lung cancer. *J Natl Cancer Inst.* 2015;107.

### **3) Допринос тезе у рјешавању изучаваног предмета истраживања**

Област имунотерапије је доживјела ренесансу посљедњих неколико година, нарочито због изванредне клиничке ефикасности терапије „checkpoint“ имуним инхибиторима у различитим карциномима, укључујући и немикроцелуларни карцином плућа. Све већи број истраживања потврђује да висок ниво тумор инфильтрујућих CD8+ и CD4+ Т-лимфоцита, процењених у стромалној и епителној компоненти тумора пацијената са немикроцелуларним карциномом плућа, корелира са позитивним исходом. Објективно мјерење субпопулација тумор инфильтрујућих Т-лимфоцита могло би бити корисно за предвиђање одговора или процјену ефекта имунотерапије. Развијен је имуноскор као изванредан дијагностички алат за процјену густоће инфильтрације CD8+ и CD4+ Т-лимфоцита, и битан прогностички и предiktivni додатак TNM класификацији означен као TNM-имуни (TNM-I). Међутим, у циљу успостављања имуноскора постоји неколико изазова као што су стандардизација процедура имунохистохемијског бојења, систем и локализација бодовања. Тренутно постоје иницијативе да се у колоректалном карциному, карциному дојке и немикроцелуларном карциному плућа, у циљу унапређења дијагностичког, прогностичког и терапијског приступа, као додатак постојећој TNM класификацији дода и имуноскор.

Резултати мр сц. др Лоре Новаковић Лацковић добијени у овој докторској дисертацији доприносе и охрабрују да се истраживања прогностичких и предiktivnih имуномаркера у немикроцелуларном карциному плућа наставе у будућности, другим клиничким студијама и отварају пут потенцијалној клиничкој примјени.

### **4) Научни и прагматични допринос дисертације**

Мало је студија са фокусом на процјени имуноскора (ниска/висока густоћа епителних и стромалних CD8+ и CD4+ Т-лимфоцита) у немикроцелуларном карциному плућа. Овом студијом дат је значајан научни допринос у истраживању прогностичких и предiktivnih имуномаркера и имуноскора за процјену одговора на конвенционалну терапију. Прагматични допринос дисертације подразумјева унапређење стандардизацији процедура имунохистохемијског бојења, систему и локализацији бодовања имуноскора.

## **V МАТЕРИЈАЛ И МЕТОД РАДА**

### **1) Материјал и критеријуми**

Материјал кориштен у дисертацији усклађен је са постављеним циљевима. Јасно су описани величина узорка, период истраживања, критеријуми укључења и искључења, начин прикупљања података и одређивања стадијума болести. Истраживање је обављено у Клиници за плућне болести и Заводу за патологију Универзитетског клиничког центра Републике Српске.

### **2) Кратак увид у примијењени метод истраживања**

Јасно и прецизно је објашњен начин подјеле испитаника у односу на терапијски одговор који ће се процјењивати након иницијална, четри циклуса полихемиотерапије засноване на платини. Процењена терапијског одговора вршиће се према RECIST 1.1. систему процјене терапијског одговора (стабилна болест - SD, парцијална регресија - PR, потпуна регресија - CR и прогресија болести – PD). Класификација узорака на основу густоће лимфоцита у епителној и стромалној компоненти тумора дефинисана је у четри групе: 0 - без присуства инфламаторног инфильтрата, I - риједак инфламаторни инфильтрат, II - умјерено густ инфламаторни инфильтрат, III - густ инфламаторни инфильтрат. Групе ће се међусобно поредити у односу на: 1) густоћу инфильтрације CD4+ и CD8+ Т-лимфоцита у епителној и стромалној компоненти тумора, 2) хистолошки тип тумора, 3) стадијум болести (TNM класификација), 4) пушачки статус (непушачи и пушачи), 5) период до прогресије болести и 6) вријеме преживљавања.

У дијелу дисертације који се односи на класичну хистолошку и имунохистохемијску методу, јасно и прецизно је објашњен начин поступања са биоптичким узорцима тумора у Заводу за патологију УКЦ РС (фиксирање, резање, депарафинисање, бојење и анализирање). У циљу коректне хистолошке диференцијације тумора плућа коришћено је имунохистохемијско бојење са антитијелима за CK7, p63, TTF1, CK5/6, напсин A, synaptophysin и chromogranin A.

Присуство позитивности у цитоплазми за CK7, CK5/6, napsin A, synaptophysin i chromogranin без обзира на интензитет бојења и процентуалну заступљеност ће се интерпретирати као позитиван резултат. Присуство нуклеарне позитивности за p63 и TTF1 без обзира на интензитет бојења и процентуалну заступљеност ће се интерпретирати као позитиван резултат. Резултати наведеног имуноистохемијског бојења ће се користити за одређивање хистолошког типа тумора. Процјена густоће CD4+ и CD8+ Т-лимфоцита у туморском ткиву ће се обављати помоћу свјетлосног микроскопа *Olympus BX41* (*Olympus, Tokyo, Japan*). Присуство ћелија са позитивним бојењем ће се процјењивати мануелно на двије локације: туморска строма и острвца туморских ћелија. За **процјену густоће CD4+ и CD8 Т-лимфоцита у туморској строми** ће се користити семикватитативна процјена тако што ће се узорци класификовати у четри групе: 0 - без присуства инфламаторног инфильтрата; I - риједак инфламаторни инфильтрат; II - умјерено густ инфламаторни инфильтрат и III - густ инфламаторни инфильтрат. За **процјену густоће CD4+ и CD8 Т-лимфоцита у епителној компоненти** број лимфоцита ће се одређивати на увећању 200x (1,1mm<sup>2</sup>). За бројање ће се селектовати три видна поља са најгушћим инфильтратом, а вриједности свих појединачних поља ће се сабрати, а затим ће се средња вриједност класификовати у групе: скор 0 - без лимфоцита; скор 1 - 1 до 19 лимфоцита; скор 2 - 20 до 49 лимфоцита и скор 3 - више од 50 лимфоцита. Приликом статистичке обраде података густина инфильтрације 0 и 1 ће се посматрати као ниска, а 2 и 3 као висока густоћа.

Комисија закључује да су примијењене методе истраживања адекватне, тачне и савремене. План истраживања који је дат приликом пријаве докторске тезе није промјењен, а сви испитивани параметри дају довољно елемената за поуздано истраживање.

Статистичка обрада података је адекватна. Приликом статистичке обраде прикупљених података кориштене су методе из домена дескриптивне статистике (укључујући и графичко приказивање података) и статистичког закључивања.

Од дескриптивних мјера издвајају се:

1. Категоријске варијабле приказане као бројеви и проценти, те поређене  $\chi^2$  тестом;
2. Колмогоров-Смирнов (Kolmogorov-Smirnov) тест као и визуелна процјена су кориштени у процјени правилности дистрибуције континуираних варијабли;
3. Континуиране варијабле су приказане као аритметичка средина (MEAN)  $\pm$  стандардна девијација (ST.DEV.) или медијана (MEDIAN), које су поређене Студентовим (Student's) t-тестом односно ANOVA (анализа варијансе) те Ман Витни (Mann Whitney) U тестом односно Крускал- Валис (Kruskal-Wallis) тестом у складу са дистрибуцијом података;
4. Дистрибуција података ће бити приказана методом кумулативне дистрибуције процената.

Варијабле које су кориштене у истраживању су:

1. Резултујуће (исходне, тј. зависне) варијабле: појава прогресије болести и смртног исхода у односу на инфильтрацију CD4+ и CD8+ Т-лимфоцита.
2. Независне варијабле: хистолошки тип тумора, стадијум болести, терапијски одговор.
3. Независне демографске варијабле: пол, старост и пушење.

Од метода мултиваријантне статистике из домена статистичког моделовања користиће се анализа преживљавања, било да се ради о анализи времена до прогресије болести или анализи времена до смрти. Од њених метода користиће се:

1. Каплан-Мајерова (Kaplan-Meier) метода за оцјену функције преживљавања,
2. Тест рангирања (log-rank) за утврђивање значајности разлике функција преживљавања у зависности од изабраног прогностичког фактора или фактора ризика те
3. Кокс (Cox) регресиона мултиваријантна анализа.

Статистички значајна разлика је дефинисана на нивоу 0,05, а разлика од врло високог статистичког значаја на нивоу од 0,01. Резултати су приказани табеларно и на сликама.

Анализирајући обрађени материјал, описане методе и материјал истраживања, а имајући у виду досадашња искуства и достигнућа у овој области, комисија констатује да су примијењене методе адекватне, а испитивани параметри довољно обрађени и објективно тумачени.

## VI РЕЗУЛТАТИ И НАУЧНИ ДОПРИНОС ИСТРАЖИВАЊА

### **1) Резултати истраживања**

Добијени резултати ове докторске дисертације приказани су на 25 страница и анализирани кроз дискусију на 25 страница.

У дијелу истраживања које се односи на демографске карактеристике испитиване популације (93 испитаника) установљена је просечна старосна доб од 61. године (распон од 36 до 75 година). У испитиваној популацији доминантни су испитаници мушких пола (76%) и пушачи (75%). У односу на хистолошке подтипове, доминантан је сквамозни карцином (54%). У женској популацији доминантан је аденокарцином (77,3%), а у мушкијој популацији сквамозни карцином (63,4%). Према стадијуму болести, пациенти са метастаском болешти чине 56% испитиване популације. Процејеном терапијском одговора (PR, SD, PD) након иницијална четри циклуса полихемиотерапије са платином у основи није уочена статистичка значајност у дистрибуцији пацијената у односу на примјењене протоколе лијечења. На ефикасност примјењеног иницијалног лијечења не утичу пол и старосна доб испитаника. У истраживању није уочен предиктивни ефекат хистологије, никаког стадијума болести и пушачког статуса на резултате лијечења иницијалном терапијом. Истраживањем нисмо доказали да густоћа инфламаторног инфильтрата CD4+ и CD8+ Т-лимфоцита у епителној и стромалној компоненти утичу на терапијски одговор. Проведеним истраживањем нисмо доказали позитиван прогностички утицај ( $p = 0,635$ ) густоће инфламаторног инфильтрата CD4+ Т-лимфоцита у епителној компоненти на вријеме до прогресије болести, али смо доказали позитиван прогностички утицај ( $p = 0,030$ ) густоће инфламаторног инфильтрата CD4+ Т-лимфоцита у стромалној компоненти на вријеме до прогресије болести. Проведеним истраживањем нисмо доказали позитиван прогностички утицај ( $p = 0,717$  и  $p = 0,102$ ) густоће инфламаторног инфильтрата CD8+ Т-лимфоцита у епителној и стромалној компоненти на вријеме до прогресије болести. Проведеним истраживањем нисмо доказали позитиван прогностички утицај ( $p = 0,786$  и  $p = 0,620$ ) густоће инфламаторног инфильтрата CD4+ Т-лимфоцита у епителној и стромалној компоненти на вријеме преживљавања. Проведеним истраживањем нисмо доказали позитиван прогностички утицај ( $p = 0,595$  и  $p = 0,149$ ) густоће инфламаторног инфильтрата CD8+ Т-лимфоцита у епителној и стромалној компоненти на вријеме преживљавања.

### **2) Критичност и коректност тумачења резултата**

Резултати истраживања су приказани на прегледан начин. Они су јасно и објективно тумачени, а кандидаткиња је показала објективан и критички став у процјени ових резултата, посебно у дијелу који се односи на поређење са резултатима сличних истраживања. Дискусија резултата показује да је кандидат способан да прикупи, обради и презентује резултате на прегледан начин, као и да на јасан и свеобухватан начин разматра приказане резултате и упореди их са литературним подацима.

### **3) Теоријски и практични допринос дисертације и нови истраживачки задаци**

Основни теоријски допринос дисертације је слједећи:

Ова докторска дисертација проширује постојећа знања о карциному плућа и туморском имунолошком одговору.

Основни практични допринос дисертације је слједећи:

Ова докторска дисертација је значајан и оригинални научни допринос у истраживању карцинома плућа као имуногеног тумора. Изабраном научном методом дат је ближи увид у туморско микроокружење и носиоце целуларног имунитета, тј. Т-лимфоцитите. Очекује се да ће резултати ове докторске дисертације бити употребљени за унапређење дијагностичког и терапијског третмана пацијената са немикроцелуларним карциномом плућа.

Основни правци нових истраживања:

Резултати ове докторске дисертације, дају одговоре на постављени проблем истраживања, али и указују на наредне правце истраживања. Суштина имунотерапије у онкологији је у дизајнирању антитијела која би блокирала или уништила малигне ћелије препознајући антиген на њиховој површини. Као резултат ове блокаде Т-ћелије се покрећу за проналажење и убијање малигних ћелија. У процјени подобности пацијената за терапију „checkpoint“ имуним инхибиторима, процјена имуног састава и имуноскор постају значајан предиктивни инструмент у процјени одговора на имунолошку терапију.

## VII ЗАКЉУЧАК И ПРИЈЕДЛОГ

Докторска дисертација мр сц.др Лоре Новаковић Лацковић под називом „Прогностички значај густине CD4+ и CD8+ Т-лимфоцита у немикроцелуларном карциному плућа“ израђена је у складу са образложењем које је кандидат приложио приликом пријаве теме.

Докторска дисертација је урађена према правилима и принципима научно-истраживачког рада и резултат је оригиналног научног рада кандидата. Резултати добијени испитивањем потврђују контраверзан прогностички значај тумор инфильтрујућих лимфоцита.

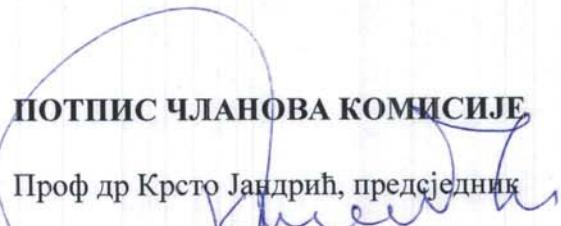
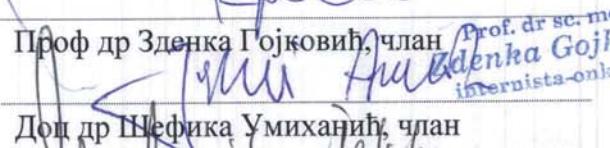
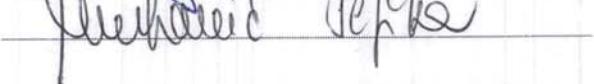
Није потврђено да пацијенти са високим нивоом тумор инфильтрујућих CD4+ и CD8+ Т-лимфоцита у епителној и стромалној компоненти тумора у испитиваној популацији имају бољи терапијски одговор на стандардну иницијалну онколошку терапију и статистички значајно дуже укупно преживљавање. Пацијенти са високим нивоом тумор инфильтрујућих CD4+ и CD8+ Т-лимфоцита у епителној компоненти тумора немају статистички значајно дуже вријеме без знакова прогресије болести. Пацијенти са високим нивоом тумор инфильтрујућих CD4+ Т-лимфоцита у стромалној компоненти тумора имају дуже вријеме без знакова прогресије болести, док пациенти са високим нивоом тумор инфильтрујућих CD8+ Т-лимфоцита у стромалној компоненти тумора немају дуже вријеме без знакова прогресије болести.

Кандидаткиња је на основу резултата поставила оквир за даља истраживања, прецизно и логично анализирала предложену тему истраживања и довела податке у везу са постављеном хипотезом. Кандидаткиња је тему ове дисертације, кроз јасно и концизно писање, учинила интересантном и корисном и за истраживаче и за практичаре. Дисертација представља оригинални допринос медицинској науци, јер проширује постојећа знања о прогностичкој и предиктивној улози имуних ћелија у немикроцелуларном карциному плућа.

Чланови Комисије, на основу укупне оцјене докторске дисертације, једногласно дају позитивну оцјену о завршеној докторској дисертацији под називом „Прогностички значај густине CD4+ и CD8+ Т-лимфоцита у немикроцелуларном карциному плућа“ мр сц.др Лоре Новаковић Лацковић и предлажу члановима Наставно-научног вијећа Медицинског факултета у Бањој Луци и Сенату Универзитета у Бањој Луци да прихвате овај извјештај и омогуће кандидату да своју докторску дисертацију јавно брани.

Датум: 28.05.2020.

### ПОТПИС ЧЛАНОВА КОМИСИЈЕ

1. Проф др Крсто Јандрић, предсједник  

2. Проф др Зденка Гојковић, члан Prof. dr sc. med.  
  
Zdenka Gojković  
intervista-onkolog
3. Доц др Шефика Умиханић, члан  


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