



Примљено: 10.2.2021			Образац -3
Орг. јед.	Број	Прилог	
	18/4.1/21		

## ИЗВЈЕШТАЈ о оцјени урађене докторске дисертације

### І ПОДАЦИ О КОМИСИЈИ

Наставно-научно вијеће Медицинског факултета Универзитета у Бањој Луци, на III електронској сједници одржаној 14.12.2020. године донијело је одлуку број 18/3.923/2020 о именовању Комисије за оцјену урађене докторске дисертације кандидата мр сц. мед. Александра Гузијана под насловом: „**Значај биолошког типа карцинома дојке у процени одабира оптималне хируршке технике**“.

Именована је Комисија у сљедећем саставу:

1. Предсједник:  
Академик Вељко Марић  
Звање: редовни професор  
Ужа научна област: Хирургија  
Институција: Медицински факултет Универзитета у Источном Сарајеву
2. Члан:  
Др Јован Ђулум  
Звање: редовни професор  
Ужа научна област: Хирургија  
Институција: Медицински факултет Универзитета у Бањој Луци
3. Члан:  
Др Радослав Гајанин  
Звање: редовни професор  
Ужа научна област: Патологија  
Институција: Медицински факултет Универзитета у Бањој Луци

Након детаљног прегледа урађене докторске дисертације кандидата мр сц. мед. Александра Гузијана, чланови Комисије подносе Наставно-научном вијећу Медицинског факултета Универзитета у Бањој Луци и Сенату Универзитета у Бањој Луци, сљедећи извјештај:

## II ПОДАЦИ О КАНДИДАТУ

Александар (Момир) Гузијан је рођен 21. јуна 1970. г. у Призрену, Србија. Дипломирао је на Медицинском факултету Универзитета у Приштини 19. марта 1998. године на смјеру Општа медицина, и тиме стекао звање доктор медицине. На Медицинском факултету Универзитета у Бањој Луци 25. априла 2005. године положио је специјалистички испит из Опште хирургије, и стекао стручни назив специјалисте опште хирургије. Одлуком Сената Универзитета у Бањој Луци (09/2008) биран у звање асистента на Медицинском факултету, ужа научна област Хирургија (2008–2012). Постдипломски магистарски студиј уписао на Медицинском факултету Универзитета у Бањој Луци, ужа научна област Хирургија, а 21. фебруара 2014. године одбранио магистарску тезу под називом „Избор оптималне методе обележавања сентинел лимфног чвора у дијагностици метастаза код инвазивног карцинома дојке“, те стекао научни степен магистра медицинских наука. Одлуком Сената Универзитета у Бањој Луци (09/2018) биран у звање вишег асистента на Медицинском факултету, ужа научна област Хирургија (2018–2022). Учесник је бројних научних и стручних скупова. Аутор је и коаутор више стручних и научних радова.

## III УВОДНИ ДИО ОЦЈЕНЕ ДОКТОРСKE ДИСЕРТАЦИЈЕ

Наслов докторске дисертације кандидата мр сц. мед. Александра Гузијана гласи: **„Значај биолошког типа карцинома дојке у процени одабира оптималне хируршке технике“.**

Одлуком Сената Универзитета у Бањој Луци, број 02/04-3.3610-81/15 од 26. новембра 2015. године, дата је сагласност на Извјештај о оцјени подобности теме и кандидата за израду докторске дисертације на Медицинском факултету Универзитета у Бањој Луци докторанта мр Александра Гузијана под насловом „Значај биолошког типа карцинома дојке у процени одабира оптималне хируршке технике“.

Садржај докторске дисертације је изложен у сљедећим поглављима:

1. Увод (стр. 1–9)
2. Циљ истраживања (стр. 10)
3. Радна хипотеза (стр. 11)
4. Испитаници и методе рада (стр. 12–15)
5. Резултати (стр. 16–56)
6. Дискусија (стр. 57–81)
7. Закључци (стр. 82)
8. Литература (стр. 83–93)

Докторска дисертација је написана ћиричним писмом, фонтом *Times New Roman*, величина 12, проред 1.5. Дисертација је написана на укупно 93 страница, формата А4. На почетку дисертације се налази укупно 6 страница, које нису нумерисане, а односе се на наслов дисертације, кључне медицинске информације (на српском и енглеском језику), и садржај докторске дисертације. Дисертација садржи укупно 40 табела и 5 графикана. Укупан фонд кориштене литературе чини 103 литературних извора, од којих је 39 публиковано у задњих пет година.

У **првој цјелини** (стр. 1–9) објашњени су разлози због којег је ово истраживање

спроведено. Карцином дојке, по својој учесталости, а нарочито због стопе смртности коју изазива, представља значајан здравствени проблем и предмет је истраживања која се воде у циљу проналажења адекватне терапије за ову болест. У овом истраживању је акценат стављен на утицај и значај локалне терапије у лијечењу карцинома дојке. У уводном дијелу су таксативно набројане и објашњене теорије о настанку и ширењу карцинома дојке, почевши од првобитне Халштедове теорије каскада, па преко Фишерове (системске) теорије, до Спектар (комбиноване) теорије. Кроз описивање наведених теорија приказан је и значај локалне терапије, који се мијењао у зависности од схватања настанка карцинома дојке. Код Халштедове теорије (почетак XX вијека) придаван је велики значај локалној терапији, а то се огледало у спровођењу радикалних оперативних захвата. У периоду настанка Фишерове теорије (средина и друга половина XX вијека) доминира мишљење да је значај локалне терапије у лијечењу карцинома дојке изузетно низак. Сматрало се да је карцином дојке у почетку одмах и метастатска болест. Најновија Спектар теорија (почетак XXI вијека) поново даје значај локалном третману, имајући у виду стопу смањивања морталитета након увођења скрининг мамографије у одређеним европским државама. Одређеним открићима на пољу молекуларне биологије, у уводном дјелу истраживања, објашњава се подјела карцинома дојке на молекуларне типове и подтипове. Подјела је добијена увођењем имунохистохемијске анализе и приступом индивидуалним туморским генским маркерима и процјени њихове експресије. Наведеним анализама добијени су молекуларни типови карцинома дојке, па данас разликујемо хормонски зависне и хормонски независне туморе дојке, као и ХЕР2 позитивне и ХЕР2 негативне туморе дојке. Експресијом генских низова карцином дојке је подјелењен на молекуларне подтипове у које спадају: Луминал А, Луминал Б, Луминал Б ХЕР2+, ХЕР2+ и троструко негативни карцином дојке (ТНКД). Значај припадности карцинома дојке одређеном молекуларном подтипу је данас одлучујући у доношењу адекватне одлуке у лијечењу карцинома дојке.

У **другој цјелини** (стр. 10) је представљен главни циљ истраживања, као и подциљеви. Циљ и подциљеви истраживања су прецизно постављени. Главни циљ истраживања односио се на утврђивање значаја биолошког типа карцинома дојке на доношење адекватне одлуке о типу оперативног захвата на дојци, у смислу поштедног или радикалног оперативног захвата. Ради свеобухватног анализирања постављеног циља истраживања, наведени су подциљеви, који су детаљније анализирали сваки појединачни молекуларни подтип карцинома дојке у односу на: стопу локалних и регионалних рецидива, стопу удаљених метастаза, стопу периода без болести и преживљавања, као и однос између спроведеног типа оперативног захвата у односу на молекуларни подтип тумора и наведене стопе поврата болести.

У **трећој цјелини** (стр. 11) је представљена хипотеза спроведеног истраживања. Хипотеза је јасно дефинисана, и заснована на претпоставци да примјењена оперативна техника у лијечењу карцинома дојке, у односу на припадност карцинома одређеном молекуларном подтипу, нема утицаја на појаву стопе рецидива, метастаза и укупног преживљавања.

У **четвртој цјелини** (стр. 12–15) представљена је цјелокупна методологија овог истраживања. Образложени су етички аспекти истраживања и представљене статистичке методе које су коришћене у анализи резултата. У оквиру ове цјелине дефинисан је укупни број испитаника, мјесто и вријеме испитивања, критеријуми који су коришћени за укључивање и искључивање испитаника у истраживању. Јасно је описан начин подјеле у испитиване групе на основу биолошког подтипа карцинома дојке, на основу имунохистохемијске анализе и такозване сурогат класификације карцинома дојке. Детаљно су описане оперативне хируршке технике које су кориштене у истраживању. Концизно је описана основна посматрана група

испитаница, као и контролна (упоредна) група, као и кориштени критеријуми за сврставање у одређену групу. Прецизно су описани и образложени инструменти петогодишњег праћења испитиваних пацијенткиња: стопа локалних и регионалних рецидива, стопа удаљених метастаза, стопа периода без болести, и стопа преживљавања. Подаци су сакупљани коришћењем базе података из оперативног протокола Центра за дојку, базе података Завода за клиничку патологију, и базе података Клинике за онкологију Универзитетског клиничког центра Републике Српске.

У **петој цјелини** (стр. 16–56) приказани су резултати спроведеног истраживања. У овој цјелини резултати истраживања су систематично приказани, почевши од општих карактеристика (старосне доби испитаница, локализације тумора у дојци, мултифокалности, типова спроведених оперативних захвата, стадијума болести, периода постоперативног праћења), преко хисто-морфолошких карактеристика тумора, закључно са стопама локалних и регионалних рецидива, удаљених метастаза и укупног преживљавања за сваки молекуларни подтип карцинома дојке. Сви резултати су након статистичке обраде приказани у табеларној форми, и у форми графикона.

У **шестој цјелини** (стр. 57–81) докторске дисертације приказана је дискусија добијених резултата. Добијени резултати у овом истраживању компарирани су са резултатима сличних истраживања која су спроведена из ове научне области. Кандидат даје одговарајућа објашњења, те на јасан начин дискутује добијене резултате у овом истраживању у односу на већ познате резултате сличних истраживања. Коментари добијених резултата у овом истраживању су језгровити, концизни, а захваљујући начину приказивања веома прегледни и разумљиви. Научни допринос спроведеног истраживања је јасно представљен и образложен.

У **седмој цјелини** (стр. 82) таксативно су набројани закључци спроведеног истраживања. Закључци на јасан и систематичан начин интерпретирају стечена сазнања и научне чињенице изнесене у оквиру дисертације, који су добијени на основу резултата истраживања и тестирања радне хипотезе. У закључцима је јасно потврђена хипотеза да припадност одређеном биолошком молекуларном подтипу карцинома дојке нема утицаја на појаву локо-регионалних рецидива, метастаза и укупног преживљавања у зависности од примјењеног типа оперативног захвата. Предиктивни значај молекуларних подтипова карцинома дојке независтан је од типа примјењеног оперативног захвата.

У **осмој цјелини** (стр. 83–93) наведен је списак кориштене литературе у оквиру спроведеног истраживања и у поступку израде докторске дисертације. Литература кориштена у писању дисертације је адекватна, мјеродавна за анализирану тему, актуелна (више од трећине наведених литературних извора је новијег датума). Списак литературе је поређан на основу и по правилима Ванкуверског система цитирања.

#### IV УВОД И ПРЕГЛЕД ЛИТЕРАТУРЕ

##### IV 1. Разлог због којег је истраживање предузето, проблем, предмет, циљеви и хипотезе истраживања

У оквиру увода јасно су и логичким редослиједом описани појмови о проблему који се истражује. Хронолошки, описујући теорије о настанку карцинома дојке које су се током вријемена мијењале, јасно се указује на значај локалног хируршког третмана у лијечењу карцинома дојке, чији се значај такође током вријемена мијењао. Детаљним приказом указује се на појаву и примјену системске хемиотерапије и радиотерапије, описујући утицај новооткривених метода лијечења на значај

локалног хирушког третмана. Позивајући се прецизно на студије које су рађене, доказује се да хирушки радикалитет нема значајног утицаја на укупно преживљавање пацијенткиња обољелих од карцинома дојке. Увођењем имунохистохемијског тестирања и експресије туморских гена почетком XX вијека уводи се молекуларна типизација карцинома дојке која за посљедицу има класификацију карцинома дојке у пет типова (Луминал А, Б, Б ХЕР2+, ХЕР2+, ТНКД). Проблем који се анализира у дисертацији односи се на доказивање да ли спроведени тип оперативног захвата код различитих молекуларних подтипова има утицаја на појаву веће стопе локо-регионалних рецидива, удаљених метастаза и укупног преживљавања.

Главни циљ истраживања је био:

- утврдити да ли биолошки тип хистолошки верификованог карцинома дојке има значаја приликом доношења адекватне одлуке о типу планираног оперативног захвата.

Подциљеви су били:

- утврдити стопу локалног и регионалног рецидива болести, удаљених метастаза и период укупног преживљавања код пацијенткиња са троструко негативним молекуларним подтипом карцинома дојке (Basal-like subtype),
- утврдити стопу локалног и регионалног рецидива, удаљених метастаза и период укупног преживљавања код пацијенткиња са молекуларним подтипом карцинома дојке којег одређују негативни хормонски естроген и прогестерон рецептори и експресија ХЕР2 гена (HER2+ subtype),
- утврдити стопу локалног и регионалног рецидива, удаљених метастаза и период укупног преживљавања код пацијенткиња са осталим молекуларним Луминал подтипима карцинома дојке (Luminal A, Luminal B, Luminal B HER2+),
- извршити статистичко поређење молекуларних подтипова карцинома дојке у односу на стопу локалних и регионалних рецидива, удаљених метастаза и укупног преживљавања,
- извршити статистичко поређење молекуларних подтипова карцинома дојке и примјењеног хирушког захвата у односу на стопу локалног и регионалног рецидива, удаљених метастаза и укупног преживљавања,
- извршити статистичко поређење типа примјењене оперативне технике у односу на стопу локалног и регионалног рецидива, удаљених метастаза и укупног преживљавања.

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

„Примењена оперативна техника у хирушком лечењу карцинома дојке, у зависности од различитих молекуларних подтипова, нема утицаја на појаву рецидива болести, удаљених метастаза и укупног преживљавања болесница.“

#### **IV 2. Преглед претходних истраживања**

Преглед релевантне литературе даје ширу слику докторске дисертације. Утицај локалне хирушке терапије на преживљавање пацијентата обољелих од карцинома дојке предмет је дискусије стручне јавности деценијама уназад, нарочито од момента када се у терапију карцинома дојке почиње примјењивати терапија цитостатикима и радиотерапија (1). До појаве цитостатика и радиотерапије, лијечење карцинома дојке се базирало само на хирушком лијечењу, а у том смислу је сматрано да што је хирушки захват радикалнији могућност преживљавања је

већа. Међутим, примјећено је да радикалнији хируршки захват смањује стопу локалних рецидива али не доприноси продуженом преживљавању (2). Студије које су вођене крајем XX вијека (NSABP B-04, B-06, Milan I), а које су имале за циљ да сагледају утицај локалног хируршког лијечења на преживљавање пацијенткиња обољелих од карцинома дојке, резултирале су схватањем и потврдом да хируршки радикалитет нема одлучујућег значаја када је у питању преживљавање. Стопа преживљавања након 20-годишњег праћења била је идентична у групи пацијенткиња код којих је дојка оперативно сачувана и зрачена, у односу на групу пацијенткиња код којих је дојка одстрањена у цијелости (3–5). Евидентно је постало да је биологија тумора та која има одлучујући утицај на ток болести, а не радикалитет локалног хируршког лијечења (6). Истраживањима др Чарлса Перуа и др. на молекуларном нивоу и приступом генским туморским маркерима и њихове експресије, тај закључак о важности биологије тумора је и потврђен на начин да је добијена подјела карцинома дојке на молекуларне подтипове (7). Низовима генске експресије издвојило се, за сада, пет молекуларних подтипова. Класификацијом карцинома дојке на интринзичне молекуларне подтипове методом генског профилисања направљен је искорак према циљаном лијечењу обољелих пацијенткиња у зависности од њихове припадности одређеном подтипу. Ради одређивања интринзичног подтипа данас је у употреби више стандардизованих тестова за генско профилисање (Oncotype DX, MammaPrint, PAM50, и др.)(8). Подтипове је карактерисало одсуство или присуство хормонске сензитивности естроген (ЕР) и прогестерон (ПР) рецептора, као и експресија или одсуство експресије ХЕР2 (хуманог епидермалног фактора раста) гена (9). Ова чињеница је омогућила стварање такозване сурогат класификације карцинома дојке на подтипове која је базирана на имунохистохемијској анализи, а условљена прије свега недоступношћу стандардизованих тестова због њихове цијене коштања. У сурогат интринзичној класификацији као допунски параметар коришћен је хистолошки градус тумора и индекс митотске пролиферације (Ki67). Карцином дојке је подијељен на Луминал и не-Луминал подтипове. У Луминал групи се разликују три подтипа: Луминал А, Луминал Б и Луминал Б ХЕР2+. У не-Луминал групи издвојила су се два подтипа: ХЕР2 позитивни карцином дојке без хормонске сензитивности ЕР/ПР, и троструко негативни карцином дојке (ТНКД) као сама по себи једна хетерогена група са одсуством ЕР/ПР и без експресије ХЕР2 гена (10). Клиничким студијама дошло се до закључка да се код ХЕР2 позитивног и ТНКД радило о биолошки агресивнијем типу карцинома дојке, који је условљавао већу стопу локо-регионалних рецидива, удаљених метастаза и смртности. Дилеме које су се након те спознаје јавиле односиле су се на разматрање да ли је поштедни хируршки захват са чувањем ткива дојке контраиндикован код биолошки агресивнијих типова тумора. Истраживања која су уследила акценат су стављала на троструко негативни карцином дојке и на ХЕР2 позитивни карцином дојке, као типове са лошијим прогностичким параметрима (11-13). Спроведена истраживања су доносила одређене резултате који су указивали да је ТНКД чешћи код млађих жена, да је овај тип тумора најчешћег хистолошког градуса 3, да је стопа локо-регионалних рецидива највећа у овом подтипу тумора у првих три године праћења, као и да је најчешћа инфилтрација лимфних чворова примећена у ХЕР2+ карциному дојке (14). Резултати већине студија ипак нису доказале да је поштедни оперативни захват контраиндикован код ова два агресивнија типа карцинома дојке, и да је поштедни оперативни захват онколошки безбједан код свих подтипова карцинома дојке (15,16). Значај класификације карцинома дојке на подтипове данас прије свега има значаја у процјени адекватног одговора на примљену хемио, хормоно и биолошку терапију, те је имунохистохемијска анализа карцинома дојке данас незаобилазна ради одређивања адекватног терапијског протокола у лијечењу

карцинома дојке.

## Литература цитирана у IV 2.

1. Dang C, Hudis CA. Adjuvant systemic chemotherapy in early breast cancer. In: Harris JR, et al. (eds.). Diseases of the breast. Fifth edition. Philadelphia: *Wolters Kluwer Health*; 2014. p. 635
2. Lerner BH. Breast surgery: What medicine did best. In: Lerner BH. The breast cancer wars. New York: *Oxford university press*; 2001. p. 80–82
3. Fisher B, Jeong JH, Anderson S, Bryant J, Fisher ER, Wolmark N. Twenty-five year follow up of a randomized trial comparing radical mastectomy, total mastectomy, and total mastectomy followed by irradiation. *N Engl J Med* 2002; 347(8): 567–575
4. Fisher B, Anderson S, Bryant J, Margolese RG, Deutsch M, Fisher ER, et al. Twenty-year follow-up of a randomized trial comparing total mastectomy, lumpectomy and lumpectomy plus irradiation for the treatment of invasive breast cancer. *N Engl J Med* 2002; 347: 1233–1241
5. Veronesi U, Cascinelli N, Mariani L, Greco M, Saccozzi R, Luini A, et al. Twenty-year follow-up of a randomized study comparing breast-conserving surgery with radical mastectomy for early breast cancer. *N Engl J Med* 2002; 347(16): 1227–1232 doi: 10.1056/NEJMoa020989
6. Morrow M. Personalizing extent of breast cancer surgery according to molecular subtypes. *Breast* 2013; 22(Suppl.2): s106–s109. doi: 10.1016/j.breast.2013.07.020
7. Perou CM, Serlie T, Eisen MB, Rijn M, Jeffrey SS, Rees CA, et al. Molecular portraits of human breast tumours. *Nature* 2000; 406: 747–752 doi: 10.1038/35021093
8. Duffy MJ, Harbeck N, Nap M, Molina R, Nicolini A, Senkus E, Cardoso F. Clinical use of biomarkers in breast cancer: Updated guidelines from the European Group on Tumor Markers (EGTM). *Eur J Cancer* 2017; 75: 284–298. doi: 10.1016/j.ejca.2017.01.017
9. Curigliano G, Burstein HJ, Winer EP, Gnant M, Dubsy P, Loibl S, et al. De-escalating and escalating treatments for early-stage breast cancer: the St. Gallen International expert consensus conference on the primary therapy of early breast cancer 2017. *Ann Oncol* 2017; 28(8): 1700–1712 doi: 10.1093/annonc/mdx308
10. Pusztai L, Mazouni C, Anderson K, Wu Y, Symmans WF. Molecular classification of breast cancer: Limitations and potential. *The Oncologist* 2006; 11: 868–877. doi: 10.1634/theoncologist.11-8-868
11. Bhatti ABH, Khan AI, Siddiqui N, Muzaffar N, Syed AA, Shah MA, et al. Outcomes of triple-negative versus non triple-negative breast cancers managed with breast-conserving therapy. *Asian Pac J Cancer Prev* 2014; 15(6): 2577–2581. doi: 10.7314/APJCP.2014.15.6.2577
12. Zumsteg ZS, Morrow M, Arnold B, Zheng J, Zhang Z, Robson M, et al. Breast conserving therapy achieves locoregional outcomes comparable to mastectomy in women with T1–2N0 triple-negative breast cancer. *Ann Surg Oncol* 2013; 20(11): 3469–3476. doi: 10.1245/s10434-013-3011-9
13. Freedman GM, Anderson PR, Li T, Nicolaou N. Locoregional recurrence of triple-negative breast cancer after breast-conserving surgery and radiation. *Cancer* 2009; 115: 946–951. doi: 10.1002/cncr.24094
14. Vasconcelos I, Hussainzada A, Berger S, Fietze E, Linke J, Siedentopf F, et al. The St. Gallen surrogate classification for breast cancer subtypes successfully predicts tumor presenting features, nodal involvement, recurrence patterns and disease free

- survival. *Breast* 2016; 29: 181–185. doi: 10.1016/j.breast.2016.07.016
15. Arvold ND, Taghian AG, Niemierko A, Abi Raad RF, Sreedhara M, Nguyen PL, et al. Age, breast cancer subtype approximation, and local recurrence after breast-conserving therapy. *J Clin Oncol* 2011; 29: 3885–3891. doi: 10.1200/JCO.2011.36.1105
16. Gangi A, Chung A, Mirocha J, Liou DZ, Leong T, Giuliano AE. Breast-conserving therapy for triple-negative breast cancer. *JAMA Surg* 2014; 149(3): 252–258. doi: 10.1001/jamasurg.2013.3037

#### **IV 3. Допринос тезе у рјешавању изучаваног предмета истраживања**

Циљ модерног онколошког лијечења данас састоји се у одређивању циљане терапије за сваког пацијента индивидуално. За разлику од периода када је важио принцип „једна терапија за све“ типове тумора („one size fits all“), досадашња истраживања на пољу биологије карцинома дојке доказала су постојање различитих типова карцинома дојке који различито реагују на примијењену онколошку терапију. То прије свега говори о самој хетерогености ове болести која изискује пажљив, одговоран, и мултидисциплинарни приступ у одређивању терапијског протокола. Мултидисциплинарност се огледа и у модалитетима лијечења. У лијечењу карцинома дојке разликујемо локално онколошко лијечење, гдје спадају оперативно хируршко лијечење и радиотерапија, и системско лијечење које подразумева специфичну медикаментозну онколошку терапију (цитостатску, хормонску, биолошку, имуно, итд.). Дисертација се бави у овом случају локалним хируршким лијечењем карцинома дојке, и евентуалним утицајем молекуларних подтипова карцинома дојке на доношење адекватне одлуке о типу оперативног захвата. Резултати ове дисертације су прилог ранијим студијама које су рађене са сличним предметом истраживања, а показали су да припадност одређеном молекуларном подтипу карцинома дојке нема значајног утицаја на одлуку о типу оперативног захвата којим се намерава спровести хируршко лијечење. Резултати овог истраживања користиће у будућим истраживањима која се баве овом проблематиком, као и клиничким докторима у свакодневной пракси. Резултати докторске дисертације мр. сц. мед. Александра Гузијана доприносе, охрабрују и подстичу да се наставе истраживања у експерименталним и клиничким студијама ради разјашњавања хетерогене природе карцинома дојке.

#### **IV 4. Научни и прагматични допринос дисертације**

Петогодишње постоперативно праћење пацијенткиња обољелих од различитих молекуларних подтипова раног карцинома дојке у односу на стопу локо-регионалних рецидива, удаљених метастаза и укупног преживљавања, прва је таква студија рађена у нашој земљи, али и у региону. Ово истраживање може дати посебан научни допринос у бољем сагледавању и стицању нових сазнања о биолошким карактеристикама карцинома дојке. Иако се дисертација базирала прије свега на оперативном хируршком лијечењу карцинома дојке, резултати су између осталог показали и биолошку агресивност Луминал Б подтипа, који је по стопи удаљених метастаза био одмах иза ХЕР2+ подтипа, који се показао као најагресивнији тип карцинома дојке. Прегледом доступне домаће литературе и претраживањем научних база података на српском језику нису пронађене студије које су испитивале сличну проблематику. У научном доприносу урађене дисертације може се закључити да је хетерогеној природи карцинома дојке овом студијом приложен још један дјелић који покушава да разјасни компликовану биологију малигну тумора.



Прагматични допринос дисертације се огледа у чињеници да се у свакодневној пракси код доношења адекватне одлуке о типу планираног оперативног захвата исти може онколошки безбједно спровести без обзира на припадност одређеном молекуларном подтипу карцинома дојке.

## V МАТЕРИЈАЛ И МЕТОД РАДА

### V 1. Материјал и критеријуми

У овој дисертацији су кориштене методе рада и материјал који су усклађени са постављеним циљевима истраживања и приказани су на четири странице. Кориштени материјал и методе истраживања омогућили су адекватан увид у посматрани проблем и пружили научни одговор на постављене циљеве односно предмет истраживања. Прелиминарни пројекат истраживања је одобрен од стране Етичког одбора Универзитетског клиничког центра Републике Српске (УКЦ РС). Истраживање представља примијењено клиничко истраживање које се базира на ретроспективној бази података и проспективним петогодишњим постоперативним праћењем испитаника. Истраживањем је обухваћено 305 испитаника женског пола, оперативно лијечених у општој анестезији због примарног инвазивног карцинома дојке у Центру за дојку УКЦ РС, у периоду од марта 2009. до децембра 2013. године. Хистопатолошка и имунохистохемијска анализа узорака је рађена у Заводу за клиничку патологију УКЦ РС. Постоперативно петогодишње праћење спроведено је на основу коришћења података Клинике за онкологију УКЦ РС.

Постављени критеријуми за укључивање испитаница у истраживање били су:

1. испитанице женског пола,
2. хистолошки верификован примарни инвазивни карцином дојке,
3. спроведена радиотерапија остатка дојке код поштедних захвата,
4. старосна доб испитаница 30 – 90 година,
5. стадијум болести I и II према AJCC (American Joint Committee on Cancer, 7th ed.),
6. слободне ресекционе маргине (R0, „no ink on tumor“),
7. урађена имунохистохемијска анализа туморског ткива,
8. доступна медицинска документација о контролним прегледима.

Критеријуми за искључивање из истраживања били су:

1. спроведена неoadјувантна хемиотерапија,
2. гравидитет,
3. спроведена радиотерапија пекторалне регије након мастектомије.

### V 2. Кратак увид у метод истраживања

На основу урађене имунохистохемијске анализе узорака од свих испитаница које су учествовале у истраживању, постављена је сурогат класификација карцинома дојке на пет молекуларних подтипова (Луминал А, Луминал Б, Луминал Б ХЕР2+, ХЕР2+, ТНКД) који су подијељени у двије групе:

1. За основну и посматрану групу изабране су испитанице са карциномом дојке код којих је имунохистохемијском анализом верификована хормонска естроген и прогестерон резистентност (ЕР-/ПР -) и одсуство амплификације ХЕР2 гена (ХЕР2-), односно пацијенткиње са такозваним троструко негативним карциномом дојке (Basal-like subtype, ТНКД). У овој групи су, због своје биолошке агресивности, анализирани и пацијенткиње са негативним хормонским статусом (ЕР-/ПР-) и експресијом ХЕР2 гена (ХЕР2+), односно ХЕР2 позитивни

карцином дојке.

2. За контролну и упоредну групу одабране су пацијенткиње са осталим молекуларним Луминал подтипovima карцинома дојке (Луминал А, Луминал Б, Луминал Б ХЕР2+), код којих је имунохистохемијском методом утврђена присутност естрогенских и прогестеронских рецептора и присуство или одсуство амплификације ХЕР2 рецептора. Подјела пацијенткиња на Луминал А и Луминал Б подтип учињена је на основу индекса пролиферације (Ki67) (Луминал А Ki67  $\leq 14\%$ , Луминал Б Ki67  $>14\%$ ), и/или на основу хистолошког градуса тумора (Луминал А - градус 1; Луминал Б - градус 2, 3).

Дијагноза примарног инвазивног карцинома дојке постављана је након извођења иглене ткивне биопсије (core needle biopsy), хистопатолошке и имунохистохемијске анализе, и урађене метастатске обраде (РТГ плућа, УЗ абдомена и скинтиграфије или РТГ аксијалног скелета). Након завршеног хируршког лијечења и одређивања постоперативног модалитета лијечења на основу одлуке Онколошког конзилијума, пацијенткиње су праћене и контролисане од стране медицинског онколога уз повремене контролне радиолошке и лабораторијске претраге. У првој години након оперативног захвата рађен је 3–4 мјесечни онколошки контролни преглед. Од друге до пете године рађен је редовни шестомјесечни контролни преглед, а након пете године редовни онколошки контролни преглед једном годишње.

Пацијенткиње су постоперативно праћене минимално 5 година.

Анализирани подаци су разврстани према клиничким карактеристикама испитаница, хистолошкој анализи туморског ткива и имунохистохемијској анализи.

У групи клиничких карактеристика испитаница анализирала се старосна доб, локализација тумора у дојци, мултифокалност/мултицентричност тумора, примијењени тип оперативне технике, преоперативни клинички стадијум болести, постоперативни период праћења у циљу утврђивања локалних, регионалних и удаљених метастаза, преживљавања без болести (DFS) и укупно преживљавање (OS). У хистолошкој анализи утврђена је: величина тумора, хистолошки тип тумора, хистолошки градус тумора, лимфна, васкуларна и перинеурална инвазија, и статус аксиларних лимфатика. У имунохистохемијској анализи одређен је статус естрогенских и прогестеронских рецептора, експресија ХЕР2 рецептора, и код појединих пацијенткиња индекс пролиферације Ki67.

Стопа локалног и регионалног рецидива, као и стопа удаљених метастаза, одређивана је у петогодишњем периоду, као и у укупном периоду праћења.

Период преживљавања без појаве болести (DFS – Disease free survival), анализиран је као период од момента оперативног захвата до појаве локо-регионалног рецидива или удаљених метастаза, у петогодишњем праћењу.

Укупно преживљавање пацијенткиња (OS – Overall survival), одређивано је као период од момента оперативног захвата до момента задњег контролног прегледа или датума смрти, у петогодишњем и укупном постоперативном праћењу.

Добијени резултати у истраживању су обрађени стандардним статистичким методама и презентовани графичким и табеларним приказом. У одређивању значајне статистичке разлике примјењени су непараметријски и параметријски тестови.

Дескриптивна статистика је коришћена код приказивања резултата истраживања. У анализи је коришћен  $\chi^2$  тест, Фишеров тест (Fisher's exact test), корекција по Јејтсу (Yates correction for continuity), Mann-Whitney-ев тест, Kruskal-Wallis тест, Independent Samples T Test. У обради статистичких података коришћен је аналитички статистички алат SPSS.

Примијењене методе истраживања у овој дисертацији су адекватне и стандардизоване у овој области истраживања. Промјена у односу на план истраживања који је представљен у пријави ове докторске дисертације није било. Сви испитивани параметри и кориштене методе пружају довољно елемената да ово

истраживање учине квалитетним.

Статистичка анализа података је била адекватна. У статистичкој обради података употребљаване су следеће аналитичке методе: при учесталостима мањим од пет у некој од ћелија коришћен је Фишер-ов тест (Fisher's Exact Test).  $\chi^2$  тест најчешће се користио код података датих категорија, а резултат  $\chi^2$  теста обухватао је и додатну „корекцију непрекидности по Јејтс-у“ (Yates Correction for Continuity) за табеле са учесталости 2x2. Код скупова са нормалним распоредом коришћене су параметарске технике. Код скупова са знатнијим одступањем од нормалног распореда или података са више екстремних опсервација, коришћене су непараметарске технике. За скупове који су знатније одступали од нормалне расподјеле параметара коришћен је Mann-Whitney-ев тест. Као статистички значајне узимане су вредности у којима је  $p < 0,05$ . За статистичку анализу те табеларне и графичке приказе резултата коришћени су следећи софтвери: IBM SPSS Statistics 20.0 (IBM; USA), MS Office Word 2010 и MS Office Excel 2010. Сви резултати су приказани табеларним приказом и графички.

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

### VI 1. Резултати истраживања

Добијени резултати ове докторске дисертације приказани су на 41 страница, а анализирани су кроз дискусију на 25 страница.

Просјечна старосна доб испитиваних пацијенткиња износила је 65 година. Није забиљежена значајна статистичка разлика у старосној доби између посматраних група, као ни између молекуларних подтипова. Најчешћа локализација тумора у дојци забиљежена је у горњем латералном квадранту код свих молекуларних подтипова. Мултифокалност тумора верификована је код 8,5% испитиваних пацијенткиња, била је заступљена у свим молекуларном подтипovima без значајне статистичке разлике међу њима. Код већине испитиваних пацијенткиња примијењен је поштедни оперативни захват (60,7%), обзиром да се код 60% пацијенткиња радило о тумору величине мање од 2cm. У односу на стадијум болести према класификацији AJCC (The American Joint Committee on Cancer), првом стадијуму болести припадало је 60% пацијенткиња а другом 40%. У односу на стадијум болести и укупно преживљавање испитаница није забиљежена значајна статистичка разлика. Просјечно вријеме постоперативног праћења износило је 75 мјесеци, код 9,8% испитаница забиљежен је смртни исход. Код највећег броја испитиваних пацијенткиња (50,8%) величина тумора је била у распону од 11–20mm. Просјечна величина тумора била је највећа у XEP2+ подтипу. Код највећег броја испитаница (75,1%) најчешћи хистолошки тип карцинома дојке био је дуктални инвазивни карцином (неспецифични), а код 6,2% верификован је лобуларни инвазивни карцином дојке. Хистолошки градус тумора 2 утврђен је код већине испитаница (61%), градус 3 је забиљежен код 26,2% а свега 12,8% имало је градус 1. У односу на молекуларне подтипове градус 3 је био доминантан код ТНКД, а градус 1 код Луминал А подтипа. Проширеност основне болести на регионалне лимфне чворове забиљежена је код 27,2% од укупног броја испитиваних пацијенткиња. Највећа стопа лимфонодалних метастаза забиљежена је у XEP2+ молекуларном подтипу, а слиједи Луминал Б и ТНКД. Од укупног броја испитиваних пацијенткиња хормонска

сензитивност на естроген и прогестерон рецепторе забиљежена је код 81,6% пацијенткиња, а код 18,7% пацијенткиња забиљежена је експресија ХЕР2 гена.

Анализирајући стопу локо-регионалних рецидива (ЛРР), удаљених метастаза и укупног преживљавања код различитих молекуларних подтипова добијени су сљедећи резултати. Код ТНКД забиљежена је стопа ЛРР 7,5%, удаљених метастаза 7,5%, и стопа петогодишњег преживљавања 92,5%. У ХЕР2 позитивном карциному дојке ЛРР верификован је код 12,5% испитаница са овим типом тумора. Стопа удаљених метастаза износила је 18,7%, а стопа петогодишњег преживљавања 81,3%. У контролној групи пацијенткиња са Луминал типом тумора, стопа ЛРР била је највећа у Луминал Б подтипу (4,1%), а најмања у Луминал А (1,7%). Стопа удаљених метастаза је била значајна у Луминал Б подтипу (16,9%), а слична у Луминал А и Луминал Б ХЕР2+ подтипу (5% vs 4,9%). Стопа преживљавања била је најмања у Луминал Б подтипу (91,9%), у Луминал Б ХЕР2+ 97,6%, а највећа у Луминал А подтипу (100%).

Анализирајући молекуларне подтипове карцинома дојке у односу на стопу ЛРР забиљежена је значајна статистичка разлика између подтипова ХЕР2+ и Луминал А, у свим осталим случајевима није пронађена значајна статистичка разлика. Узимајући у обзир основну и посматрану групу (ХЕР2+, ТНКД vs Луминал А, Б, Б ХЕР2+), није добијена статистички значајна разлика ( $p=0,056$ ). Добијена је статистички значајна разлика у стопи удаљених метастаза у односу на подтипове ХЕР2+ и Луминал Б према подтипу Луминал А. Пацијенткиње са Луминал А подтипом су имале високо статистички значајно преживљавање у односу на ХЕР2+ подтип, а статистички значајно боље у односу на Луминал Б подтип. Такође, статистички значајно боље преживљавање имале су пацијенткиње са Луминал Б ХЕР2+ подтипом у односу на ХЕР2+. У осталим случајевима није добијена статистички значајна разлика у преживљавању.

У зависности од примијењене оперативне технике (поштедна и радикална) код различитих молекуларних подтипова није добијена статистички значајна разлика у односу на стопу ЛРР, удаљених метастаза и укупног преживљавања. Резултати су показали да примијењени тип оперативног захвата није утицао на стопу ЛРР, удаљених метастаза и преживљавање.

Анализом примијењене оперативне технике, не узимајући у обзир припадност молекуларним подтиповима, није забиљежена статистички значајна разлика у стопи ЛРР. Стопа удаљених метастаза била је већа у групи пацијенткиња код којих је рађен радикални оперативни захват, и забиљежена је статистички значајна разлика између поштедних и радикалних оперативних захвата. Резултат је показао значај биологије тумора у односу на хируршки радикалитет. У стопи укупног преживљавања није забиљежена статистички значајна разлика између примијењених оперативних техника.

На основу добијених резултата кандидат је извео сљедеће закључке:

1. Предиктивни значај молекуларних подтипова карцинома дојке независтан је од типа примијењене оперативне технике.
2. Истраживање није доказало утицај примијењеног оперативног захвата код различитих молекуларних подтипова на стопу ЛРР, удаљених метастаза и укупног преживљавања.
3. Резултати истраживања су потврдили онколошку безбједност поштедног оперативног захвата код свих молекуларних подтипова карцинома дојке.
4. Биолошки фенотип карцинома дојке је главни прогностички параметар.
5. У истраживању је јасно демонстрирана агресивна биолошка форма подтипова ХЕР2+, Луминал Б и ТНКД, када је у питању стопа ЛРР, удаљених метастаза и периода преживљавања без болести (DFS).
6. ХЕР2+ подтип се издвојио као подтип са лошим прогностичким

карактеристикама, и најлошијим укупним преживљавањем (OS).

7. Луминал А подтип карцинома дојке издвојио се као подтип са најбољим прогностичким параметрима.
8. Ризик од удаљених метастаза био је најзаступљенији у ХЕР2+ и Луминал Б подтипу.

## **VI 2. Критичност и коректност тумачења резултата**

Резултати истраживања су приказани јасно, прегледно презентовани и објективно тумачени. Од стране кандидата показан је објективан и критички став у анализи резултата докторске дисертације, нарочито у дијелу који се односи на компарацију резултата са резултатима досадашњих истраживања која су спроведена у овој научној области. Дискусија о резултатима добијеним у овој докторској дисертацији показује способност кандидата у прикупљању, анализи и прегледној презентацији резултата, као и да на јасан и свеобухватан начин приступа компарацији приказаних резултата са литературним подацима.

## **VI 3. Теоријски и практични допринос дисертације и нови истраживачки задаци**

*Основни теоријски допринос дисертације је сљедећи:*

Ова докторска дисертација проширује постојећа знања о биолошкој агресивности одређених молекуларних подтипова карцинома дојке издвајајући, осим ТНКД и ХЕР2+ карцинома дојке за које се поуздано зна да се ради о агресивнијим типовима, Луминал Б подтип са високом стопом удаљених метастаза у петогодишњем праћењу. Такође, спознајом да је Луминал А подтип карцинома дојке подтип са добрим прогностичким параметрима, оставља се могућност даљег смањивања хируршког радикалитета у овој селектованој групи тумора.

*Основни практични допринос дисертације је сљедећи:*

Резултати ове докторске дисертације потврђују значај биолошког типа карцинома дојке у односу на локално хируршко лечење. Са тим у вези, молекуларни подтип карцинома дојке данас условљава и редослијед поступака у терапији карцинома дојке, односно одређује како ће се примарно започети лијечење карцинома дојке. Значај хирургије и локалног хируршког лијечења свакако остаје битан, у смислу адекватно урађеног онколошког оперативног захвата и стандардизације преоперативних поступака који подразумевају хистопатолошку верификацију и комплетну метастатску обраду пацијената. Такође, резултати ове дисертације потврђују хируршко правило које сада гласи „мање је више“ („less is more“), а односи се на тенденцију смањивања хируршког радикалитета.

*Основни правци даљих истраживања:*

Резултати ове докторске дисертације дају одговоре на постављене циљеве истраживања, али такође указују и на будуће правце истраживања. Један од подтипова карцинома дојке који показује изразиту индивидуалну хетерогеност је троструко негативни карцином дојке (ТНКД), и правци даљег истраживања биологије карцинома дојке свакако ће бити усмјерени на разјашњавање овог подтипа карцинома. Када је у питању локални хируршки третман карцинома дојке трендови показују наставак смањивања радикалности у хирургији аксиле, и у том смислу одређене студије које разматрају изостављање хирургије аксиле су у току и очекују се њихови резултати.

## VII ЗАКЉУЧАК И ПРИЈЕДЛОГ

Докторска дисертација мр сц. мед. Александра Гузијана под називом „Значај биолошког типа карцинома дојке у процени одабира оптималне хируршке технике“ 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 овог истраживања јасно указују да молекуларни подтипови карцинома дојке (Луминал А, Б, Б ХЕР2+, ТНКД, ХЕР2+) немају значајног утицаја на стопу рецидива, удаљених метастаза и укупног преживљавања, у односу на тип спроведеног оперативног захвата, већ да је последица поновног јављања и прогредирања болести искључиво показатељ биолошке агресивности одређеног молекуларног подтипа.

Предложена тема је адекватно анализирана, а добијени подаци доведени у везу са постављеном хипотезом. Кандидат је тему ове докторске дисертације, кроз јасно и концизно писање, учинио интересантном и корисном како за истраживаче тако и за клиничке докторе у практичном раду.

Дисертација представља оригинални допринос медицинској науци проширујући знања о молекуларним подтипovima карцинома дојке и њиховој различитој биолошкој агресивности која је приказана кроз стопу рецидива болести, удаљених метастаза и укупног преживљавања пацијенткиња обољелих од карцинома дојке, у току петогодишњег праћења.

Чланови Комисије на основу укупне оцјене докторске дисертације једногласно дају позитивну оцјену о завршеној докторској дисертацији под називом „Значај биолошког типа карцинома дојке у процени одабира оптималне хируршке технике“ мр сц. мед. Александра Гузијана и предлажу члановима Наставно-научног вијећа Медицинског факултета Универзитета у Бањој Луци и Сенату Универзитета у Бањој Луци да прихвате овај Извјештај и омогуће кандидату јавну одбрану своје докторске дисертације.

Датум: 4. фебруар 2021.

## ПОТПИС ЧЛАНОВА КОМИСИЈЕ

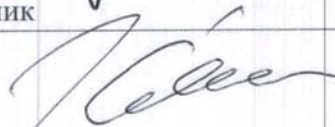
1.



Akademik  
prof. dr. Veljko Marić  
hirurg

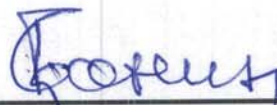
Академик проф. др сц. мед. Вељко Марић,  
предсједник

2.



Проф. др сц. мед. Јован Ђулум, члан

3.



Проф. др сц. мед. Радослав Гајанић, члан