

**NASTAVNO NAUČNOM VEĆU MEDICINSKOG FAKULTETA
UNIVERZITETA U BEOGRADU**

Na sednici Nastavno-naučnog veća Medicinskog fakulteta u Beogradu održanoj dana 11.09.2023. godine, u odluci broj 14/XVI-1/3-CP, imenovana je komisija za ocenu završene doktorske disertacije pod naslovom:

„Određivanje značaja hormonskog, HER2 statusa i proliferativnog indeksa Ki67 u nastanku patoloških fraktura kod pacijentkinja sa metastatskim karcinomom dojke“

kandidata dr Stanislava Rajkovića, zaposlenog u Institutu za ortopediju “Banjica” u Beogradu. Mentor je Prof. dr Jelena Sopta, a komentor Prof. dr Zoran Baščarević.

Komisija za ocenu završene doktorske disertacije imenovana je u sastavu:

1. Prof. dr Nemanja Slavković, profesor Medicinskog fakulteta u Beogradu
2. Doc. dr Srđan Nikolić, docent Medicinskog fakulteta u Beogradu
3. Prof. dr Radoslav Gajanin, profesor Medicinskog fakulteta u Banja Luci

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

IZVEŠTAJ

A) Prikaz sadržaja doktorke disertacije

Doktorska disertacija dr Stanislava Rajkovića napisana je na ukupno 60 strana i podeljena je na sledeća poglavlja: uvod, ciljevi rada, materijal i metode, rezultati, diskusija, zaključci i literatura. U disertaciji se nalazi ukupno 9 tabela, 15 grafikona i 18 slika. Doktorska disertacija sadrži još naslovnu stranu na srpskom i engleskom jeziku, podatke o mentoru, komentoru i članovima komisije, izjave zahvalnosti, sažetak na srpskom i engleskom jeziku, sadržaj, biografiju kandidata i izjave o autorstvu, istovetnosti i korišćenju.

U **uvodu** je opisan karcinom dojke, njegova epidemiologija i etiopatogeneza, klinička slika i prirodni tok, zatim i dijagnostika, prevencija i lečenje primarnog karcinoma dojke. U daljem

tekstu uvoda opisane su metastaze karcinoma dojke, njihova epidemiologija, mehanizam metastaziranja i razvoja, kao i klinička slika i dijagnostičke procedure koje se koriste u otkrivanju i praćenju metastaza sa posebnim osvrtom na metastaze u skeletu. Dalje su opisane i tabelarno prikazane najvažnije klasifikacije karcinoma dojke. U poslednjem delu uvoda autor opisuje polne hormone, njihov sastav, mehanizam delovanja, kao i receptore preko kojih ostvaruju dejstvo. Opisuje i receptor za humani epidermalni faktora rasta 2 (HER2) i njegovo dejstvo u zdravom tkivu. Zatim se opisuju efekti ovih receptora u tkivu tumora, odnosno njihove manifestacije u biološkom i kliničkom ponašanju tumora. Konačno, definiše se i Ki67 proliferativni indeks i njegov uticaj na ponašanje tumora i kliničke manifestacije.

Ciljevi rada su precizno definisani. Sastoje se od određivanja učestalosti nastanka patološke frakture kod pacijentkinja kojima je potvrđena hematogena skeletna diseminacija karcinoma dojke, određivanja imunohistohemijskog statusa estrogenskih, progesteronskih i HER2 receptora i proliferativnog indeksa Ki67 u tkivu metastatskog karcinoma dojke dobijenog biopsijom kosti i definisanja tipa metastatskog karcinoma dojke, zatim utvrđivanja stepena povezanosti demografskih i kliničko-radioloških karakteristika sa tipom metastatskog karcinoma dojke u kosti i stepena povezanosti tipa metastatskog karcinoma dojke sa nastankom patološke frakture.

U poglavlju **materijal i metode** je navedeno da se radi o retrospektivnoj, opservacionoj studiji u kojoj su prikupljeni i analizirani klinički, radiografski i patološki podaci 152 pacijenata sa skeletnim metastazama karcinoma dojke operisanih u referentnom centru za ortopedsku onkologiju Instituta “Banjica” iz Beograda i čiji su preparati patološki analizirani u Institutu za patologiju “Dr Đorđe Joanović” iz Beograda u toku perioda jun 2011. - septembar 2021. godine. Detaljno su navedeni svi demografsko-klinički podaci koji su prikupljeni, kao i patološki podaci uz metode njihovog dobijanja. Navedeni su kriterijumi uključivanja i isključivanja pacijanata. Opisane su i metode statističke obrade podataka.

Ova studija je odobrena je od strane Etičkog komiteta Medicinskog fakulteta Univerziteta u Beogradu.

U poglavlju **rezultati** detaljno su opisani i jasno grafički, tabelarno i u slikama predstavljeni svi dobijeni rezultati. Rezultati su podeljeni u dve celine – demografko-klinički i imunohistohemijski.

Diskusija je napisana jasno i pregledno, sa uporednim pregledom dobijenih rezultata doktorske disertacije i podataka ranijih istraživanja.

Zaključci sažeto prikazuju najvažnije nalaze koji su proistekli iz rezultata rada uz mogućnost njihove primene u kliničkoj praksi.

Korišćena **literatura** sadrži spisak od 116 referenci među kojima i dva rada objavljena iz disertacije, a u kojima je dr Stanislav Rajković prvi autor.

B) Provera originalnosti doktorske disertacije

Na osnovu Pravilnika o postupku provere originalnosti doktorskih disertacija koje se brane na Univerzitetu u Beogradu i nalaza u izveštaju iz programa iThenticate kojim je izvršena provera originalnosti doktorske disertacije „Određivanje značaja hormonskog, HER2 statusa i proliferativnog indeksa Ki67 u nastanku patoloških fraktura kod pacijentkinja sa metastatskim karcinomom dojke“ autora dr Stanislava Rajkovića utvrđeno je podudaranje teksta od 6% u 71 izvoru. Ovaj stepen podudarnosti je najviše posledica korišćenjana standardnih skraćenica (ER, PR, HER2, Ki67, ASCO, CAP, MRI, CT, RANK, OPG, SPSS, OR, Ci i sl.), prethodno publikovanih rezultata doktorandovih istraživanje, zatim nekih jezičkih konstrukcija koje su uobičajene za svakodnevno i naučno izražavanje, kao i nekih epidemioloških podataka o karcinomu dojke preuzetih iz javnih baza (Institut Batut), čiji su izvori precizno navedeni u literaturi, što je u skladu sa članom 9. Pravilnika.

Na osnovu svega iznetog, a u skladu sa članom 8. stav 2. Pravilnika o postupku provere originalnosti doktorskih disertacija koje se brane na Univerzitetu u Beogradu, izveštaj ukazuje na originalnost doktorske disertacije, te se propisani postupak prepriema za njenu odbranu može nastaviti.

C) Kratak opis postignutih rezultata

Rezultati studije su prikazani u dve celine. Prva celina su demografko-kliničke karakteristike u okviru koje je prikazana distribucija pacijenata prema starosti (najmlađa 33, najstarija 83 godine), ranijoj dijagnozi primarnog karcinoma dojke i njegovog lokalnog i sistemskog lečenja, kao i prosečno vreme od te dijagnoze do dijagnoze skeletnih metastaza (75,7 meseci), zatim od

dijagnoze metastaza do pojave simptoma (5,1 mesec) i konačno od pojave simptoma do nastanka patološke frakture (4,4 meseca). Ovi rezultati su prikazani u Grafiku 4 čime je slikovito opisan tok bolesti. Isti rezultati su prikazani i u Tabeli 1 u kojoj su naznačene prosečne vrednosti, procentualno učešće u grupi i opsezi, kao i vrednosti dobijene statističkom analizom od kojih ni jedna nije pokazala statistički značajnu povezanost sa nastankom patološke frakture. U daljim rezultatima prikazana je raspodela pacijenata prema postojanju patološkog preloma i prema broju metastaza, kao i njihova raspodela po pojedinačnim kostima u skeletu. Najveći broj metastaza zabeležen je u femuru (71), kao i patoloških preloma (55). Prikazana je i raspodela metastaza prema vrsti radiografske prezentacije – osteolitične (33,6%) i mešovite (66,4%). Ovi rezultati prikazani su i u Tabeli 2 zajedno sa rezultatima statističke analize povezanost sa nastankom patološke frakture gde su se izdvojili rezultati za pljosnate kosti ($p < 0,01$), posebno karličnu kost ($p < 0,01$) i duge kosti ($p < 0,01$), posebno za dijafizu humerusa ($p < 0,05$) i vrat ($p < 0,01$) i dijafizu femura ($p < 0,05$). U rezultatima su navedene i operativne tehnike kojima su rešavani nastali patološki prelomi što je prikazano i na Slici 8.

U drugoj celini prikazani su imunohistohemijski rezultati. Najpre je prikazana distribucija receptora za progesteron i estrogen i HER2 u tkivu metastaza. PR pozitivne metastaze su utvrđene u 46,7% slučajeva, ER pozitivne u 76,9%, a HER2 pozitivne u 37,5%. Isto to je prikazano i prema prisustvu patološkog preloma. Zatim je prikazan rezultat prosečne vrednosti proliferativnog indeksa Ki67 i to za sve metastaze (23,4), kao i za metastaze sa (22,9) i bez patološkog preloma (24,2). Ovi rezultati prikazani su i u Tabeli 8 i to kao prosečne vrednosti, procentualno učešće i opseg. Statistička analiza rezultata je prikazana kao OR i CI95% i kao P vrednost kao pokazatelj povezanosti sa nastankom patološke frakture gde se izdvojila pozitivnost tkiva metastaze na PR ($p < 0,05$) uz značaj njegovog skora ($p < 0,05$) i procenta obojenih ćelija ($p < 0,05$), ali ne i intenziteta bojenja ($p = 0,066$). Povezanost nastanka patološke frakture sa pozitivnošću na ER ($p = 0,708$), HER2 ($p = 0,468$) i Ki67 proliferativnim indeksom ($p = 0,468$) nije utvrđena. U daljim rezultatima prikazana je distribucija tipova metastatskog karcinoma dojke u skeletu prema kombinacijama hormonskih receptora i HER2, kao i njihova zastupljenost u kostima sa i bez patološkog preloma. Ovaj rezultat je prikazan u Tabeli 9 uljučujući i rezultat analize statističke povezanosti tipa metastatskog karcinoma sa nastankom patološke frakture gde je potvrđena povezanost PR pozitivnih metastaza, ali bez izdvajanja bilo kog pojedinačnog tipa.

D) Usporedna analiza doktorske disertacije sa rezultatima iz literature

Unazad decenijama brojne studije bavile su se primarnim karcinomom dojke i postignuti su značajni rezultati u unapređenju dijagnostike i lečenja. Međutim, metastatska faza bolesti i dalje predstavlja neizlečivo stanje tako da studije koje se bave ovim problemom dobijaju na značaju u skorije vreme. U doktorskoj disertaciji dr Stanislava Rajkovića dobijeni su važni demografski podaci koji imaju uporište u prethodno sprovedenim studijama. Prosečna starost pacijentkinja u studiji od 61,4 godine, kao i opseg od 33 do 83 godine odgovara ranijim nalazima (Sancho-Garnier H. i sar., 2019.; Budny A. i sar., 2019.; Radecka B. i sar., 2016.). Podaci o lečenju primarnog karcinoma dojke u vidu operativnog uklanjanja tumora, hemoterapije i lokalne zračne terapije kod pacijentkinja u Srbiji odgovara standardima (Jacobson G. i sar., 2021.; Burstein H. i sar., 2010.; Lebert J. i sar., 2022.). Rezultati studije pokazali su relativno dugo vreme bez bolesti kod pacijentkinja prethodno lečenih od primarnog karcinoma dojke, prosečno oko šest godina, ali i ubrzavanje toka bolesti nakon pojave metastaza. Ovi rezultati odgovaraju ranijim studijama (Zhang H. i sar., 2018.; Yang M. i sar., 2019.; Sathiakumar N. i sar., 2012.). Nisu poznate ranije studije koje su se bavile ispitivanjem povezanost demografskih podataka sa nastankom patološkog preloma, što daje poseban značaj podacima dobijenim u ovoj disertaciji.

Rezultati distertacije koji se odnose na kliničko-radiološke parametre – zahvaćenost metastazama pojedinačnih kostiju, broj metastaza, vrsta radiografske prezentacije i raspodela patoloških preloma u pojedinačnim kostima, u većini su pokazali podudarnost sa ranijim studijama. Najveći broj metastaza i patoloških preloma dijagnostikovani su u femuru, pršljenovima i karlici (Yang M., 2019.). Odnos solitarnih i multiplih metastaza odgovara ranijim nalazima sa značajnim brojem solitarnih sekundarnih depozita (Hosaka S. 2016., Karatas M., 2014.). Delimično odstupanje od prethodnih podataka postoji u odnosu radiografski osteolitičnih i mešovutih metastaza. U ovoj studiji konstatovano je nešto više mešovutih metastaza dok literatura opisuje nešto više osteolitičnih (Costelloe M., 2009.). Unazad više decenija ovi kliničko-radiološki parametri su jedini korišćeni za procenu rizika za nastanak patološke frakture (Mirels H., 1989.; Fisher G., 2010.). Rezultati ove studije potvrdili su ispravnost korišćenja većine ovih parametara, posebno prisustva metastaze u pojedinačnoj kosti, gde duge kosti, a najviše femur, nose najveći rizik za prelom, dok pljosnate kosti, a posebno karlica nisu rizične. U ovoj studiji vrsta radiografske koštane reakcije nije pokazala veći rizik za nastanak preloma kod osteolize u odnosu na mešovitu reakciju i to je potrebno dodatno ispitati.

Rezultati ispitivanja uticaja hormonskih receptora, HER2 i Ki67 indeksa pokazali su da ima znatno više PR+ skeletnih metastaza sa patološkim prelomom u odnosu na PR+ metastaze bez preloma. Takođe je pokazano da je PR skor značajno viši kod metastaza sa prelomom, kao i da ovo zavisi od procenta obojenih ćelija, a ne od intenziteta bojenja. Ovakav rezultat odgovara prethodnim studijama koje su se bavile analizom faktora pozitivnosti za PR i ER i koje predlažu da se prisustvo $\geq 1\%$ pozitivnih ćelija već može smatrati hormon-receptor pozitivnim tumorom (Hammond E. i sar., 2010.; Jiang X. i sar., 2022.). Ali, sam uticaj navedenih receptora na nastanak patološkog preloma nije do sada ispitivan i tom smislu rezultati ove studije predstavljaju prvi korak ka mogućem obaveznom ispitivanju imunohistohemijskog statusa tkiva metastaza i uključivanju tog parametra u procenu rizika za nastanak patološkog preloma i odluku za operativno lečenje.

E) Objavljeni radovi koji čine deo doktorske disertacije

1. Rajkovic SM, Charalambous MP, Charalambous CP, Simic LD, Djuricic GJ, Dundjerovic DM, Miceta LD, Milicic BR, Sopta JP. Higher rate of progesterone receptor positivity in skeletal metastases of breast cancer with a pathological fracture vs those without fracture. *Int J Cancer*. In print 2023 Jun 2. doi: 10.1002/ijc.34605. (M21, IF 6.4)
2. Rajkovic S, Sopta J. Skeletne metastaze karcinoma dojke – uticaj hormonskih i HER2 receptora. *Medicinski podmladak*. U štampi 2024. doi 10.5937/mp75-43870

F) Zaključak (obrazloženje naučnog doprinosa)

Doktorska disertacija „Određivanje značaja hormonskog, HER2 statusa i proliferativnog indeksa Ki67 u nastanku patoloških fraktura kod pacijentkinja sa metastatskim karcinomom dojke” autora dr Stanislava Rajkovića, kao prvi ovakav rad u našoj populaciji i jedan od retkih radova na svetskom nivou o ovoj temi, predstavlja originalni naučni doprinos u razumevanju nastanka i razvoja skeletnih metastaza karcinoma dojke, kliničkom toku bolesti u metastatskoj fazi i konačno, uticaju različitih faktora, a najpre hormonskih receptora, HER2 i proliferativnog indeksa Ki67 na nastanak patološke frakture kao najteže komplikacije skeletnih metastaza

Treba naglasiti da je pokazano da do sada korišćeni klinički parametri trebaju biti dopunjeni patološkim – imunohistohemijskim parametrima, u cilju procene rizika za nastanak patološke frakture i donošenja odluke o preventivnom operativnom lečenju.

Ova doktorska disertacija je urađena prema svim principima naučnog istraživanja. Ciljevi su precizno definisani, metodologija rada je jasna. Rezultati su pregledno i sistematično prikazani i diskutovani, a iz njih su izvedeni odgovarajući zaključci.

Na osnovu svega navedenog komisija predlaže Naučnom veću Medicinskog fakulteta Univerziteta u Beogradu da prihvati doktorsku disertaciju dr Stanislava Rajkovića i odobri njenu javnu odbranu radi sticanja akademske titule doktora medicinskih nauka.

Beograd/Banja Luka, 27.09.2023.

Članovi Komisije:

Prof. dr Nemanja Slavković

Doc. dr Srđan Nikolić

Prof. dr Radoslav Gajanin

Mentor:

Prof. dr Jelena Sopta

Komentor:

Prof. dr Zoran Bašćaravić
