

OCJENA PODOBNOSTI TEME DOKTORSKE DISERTACIJE I KANDIDATA

OPŠTI PODACI O DOKTORANDU	
Titula, ime i prezime	dr Nikoleta Sjekloća
Fakultet	Medicinski Fakultet u Podgorici
Studijski program	Doktorske studije
Broj indeksa	3/11
Podaci o magistarskom radu	Naziv polaznih istraživanja: Imunohistohemijski nivo IMP3 u trostruko negativnim karcinomima dojke. Naučna oblast: Patologija Institucija: Medicinski fakultet, Univerzitet Crne Gore Datum odbrane polaznih istraživanja: 07.06.2016. Ocjena: A
NASLOV PREDLOŽENE TEME	
Službeni jezik	Prognostički značaj IMP3 i uticaj na preživljavanje kod pacijentkinja sa trostruko negativnim karcinomima dojke
Engleski jezik	Prognostic value and survival impact of IMP3 in patients with triple negative breast cancer
Datum prihvatanja teme i kandidata na sjednici Vijeća fakulteta	16.11.2016.
Naučna oblast doktorske disertacije	Patologija
Za navedenu oblast matični su sljedeći fakulteti	
Medicinski fakultet, Podgorica	
A. IZVJEŠTAJ SA JAVNE ODBRANE POLAZNIH ISTRAŽIVANJA DOKTORSKE DISERTACIJE	
Odbrana polaznog istraživanja »Imunohistohemijski nivo IMP3 proteina u trostruko negativnim karcinomima dojke«, kandidata dr med Nikoleta Sjekloće, počela je 07.06.2016. godine u 12,00 časova, pred Komisijom u sastavu:	
<ol style="list-style-type: none"> 1. Prof. dr Vladimir Todorović – predsjednik 2. Prof. dr Snježana Tomić – mentor 3. Prof. dr Filip Vukmirović – član 4. Doc. dr Olivera Miljanović – član 5. Acc. prof. dr Goran Nikolić - član 	

Predsjednik Komisije, prof. dr Vladimir Todorović saopštio je biografske i druge relevantne podatke, nakon čega je doktorant iznio kraći rezime, rezultate i zaključke, do kojih je došao u svojim polaznim istraživanjima, u vremenu od 30 minuta.

Nakon saslušanog izlaganja doktoranta, članovi Komisije postavili su pitanja koja su u pisanom obliku sastavni dio Zapisnika.

Komisija je nakon sprovedenog postupka donijela Odluku da je doktorant dr med Nikoleta Sjekloća, sa uspjehom odbranila polazno istraživanje i ocijenila ga ocjenom »A« (odbranila sa izuzetnim uspjehom«).

B. OCJENA PODOBNOSTI TEME DOKTORSKE DISERTACIJE

B1. Obrazloženje teme

Trostruko negativni karcinom dojke (TNBC), kao kliničko-patološki entitet, prvi put se pominje u literaturi 2005. godine. Do danas, ovaj termin se pominje u više od 600 publikacija.

Od dosadašnjih istraživačkih dostignuća u dijelu trostruko negativnih karcinoma dojke, važan je pronalazak mutacija BRCA1 gena koji učestvuje u mehanizmu reparacije DNK obezbjeđuje stabilnost ovog molekula.

Studije su pokazale da trostruko negativni karcinomi dojke čine 12 - 17% svih karcinoma dojke. To je heterogena grupa tumora koja se povezuje sa agresivnim kliničkim tokom. Češće metastaziraju hematogenim putem u pluća i mozak, dok su metastaze u lokoregionalne limfne čvorove rjeđe u poređenju sa ostalim tumorima dojke. Manje od 30% pacijentkinja sa metastatskim TNBC živi 5 godina i kod svih je uzrok smrti osnovna bolest, uprkos primijenjenoj adjuvantnoj hemioterapiji koja je danas i osnova liječenja ovih pacijentkinja.

TNBC su udruženi sa lošijim ukupnim preživljavanjem (OS) i preživljavanjem bez znakova progresije bolesti (DFS) u poređenju sa ostalim tipovima karcinoma dojke.

Iz navedenog je jasno zašto su trostruko negativni karcinomi dojke predmet istraživanja kandidatkinje. Naime, specifična priroda ove bolesti i loša prognoza, kreiraju veliku potrebu za boljim razumijevanjem molekularne osnove TNBC i pronalaženjem novih molekularnih markera koji bi imali prognostički i prediktivni značaj kod ovih tumora i omogućili dodatnu subklasifikaciju TNBC. Novi molekularni markeri mogli bi obezbijediti prognostičku stratifikaciju trostruko negativnih karcinoma dojke i biti osnova za pronalaženje efikasnijih metoda liječenja ovih tumora. Mali broj poznatih molekularnih markera i loša prognoza TNBC, čine ovu oblast izuzetno aktuelnom za istraživanja.

U cilju predviđanja ishoda bolesti kao i stepena rizika od pojave recidiva i odgovora na primijenjenu terapiju koriste se prognostički faktori. U literaturi je do danas opisan veliki broj klasičnih prognostičkih faktora koji utiču na dužinu preživljavanja pacijentkinja operisanih od karcinoma dojke. Klasični prognostički faktori temelje se na karakteristikama tumora i uključuju: veličinu tumora, histološki tip, stepen diferenciranosti (gradus), limfovaskularnu invaziju, udio neinvazivne komponente, status limfnih čvorova, te stadijum proširenosti bolesti. Prediktivni faktori koriste se za procjenu odgovora na određene vrste liječenja, a najznačajniji prediktivni faktori koji su u upotrebi kod karcinoma dojke su: estrogenski (ER) i progesteronski receptori (PR), HER2 status i proliferacijski indeks Ki-67.

Klasični prognostički faktori pokazali su se nedovoljno osjetljivim da predvide ishod

bolesti i stepen rizika od pojave recidiva kod TNBC. Takođe, kod ovih tumora dojke ciljano hormonsko i anti-HER2 liječenje nije pokazalo značajan efekat. Upravo to je razlog sve većih ulaganja u ispitivanje specifičnih biomarkera i njihovog prognostičkog značaja za TNBC.

Predmet ovog istraživanja upravo će biti ispitivanje molekularnog markera IMP3 (Insulin-like growth factor II mRNA binding protein 3) kao prognostičkog faktora kod TNBC, na način što će se pratiti ishod bolesti - preživljavanja bez progresije bolesti (DFS) i ukupno preživljavanje (OS) i korelirati sa imunohistohemijskom ekspresijom IMP3 u tumorskim ćelijama.

IMP3 (Insulin-like growth factor II mRNA binding protein 3) je pripadnik porodice insulinu sličnih faktora rasta tipa II (IGF2) koji ima ključnu ulogu u prenošenju i stabilizaciji mRNK, ćelijskom rastu i migraciji tokom embriogeneze. IMP3 protein funkcioniše kao kontrolor procesa translacije na nivou mRNK.

Dosadašnja istraživanja su pokazala da je ekspresija IMP3 negativna u zdravim zrelim tkivima, a pozitivna u zloćudnim tumorima debelog crijeva, bubrega, mokraćne bešike, duktalnom adenokarcinomu pankreasa, karcinomu želuca, nesitnoćelijskom karcinomu pluća, u malignom melanomu, karcinomu štitaste žlijezde, osteosarkomu i konačno karcinomu dojke. Takođe, u nekoliko je studija pokazano da je ekspresija IMP3 povezana sa agresivnim ponašanjem tumora,

uznapredovalim kliničkim stadijumom bolesti, nalazom udaljenih metastaza i kraćim ukupnim preživljavanjem u karcinomima pluća i jednjaka.

Istraživanje obuhvaćeno Temom oslanja se na prethodno sprovedena polazna istraživanja.

U polaznim istraživanjima analiziran je stepen imunohistohemijske ekspresije IMP3 kod pacijentkinja sa trostruko negativnim karcinomom dojke, a zatim je analizirana i njeno povezanost sa kliničkim i patohistološkim karakteristikama TNBC. Kao rezultat polaznih istraživanja pronađen je visok stepen ekspresije IMP3 kod TNBC (35,6% u ispitivanom uzorku), kao i statistički značajna korelacija stepena imunohistohemijske ekspresije IMP3 sa analiziranim patohistološkim prognostičkim faktorima: veličinom tumora, nalazom vaskularne invazije i bazalnim imunofenotipom u tkivu trostruko negativnih karcinoma dojke. Histološki gradus, koji je značajno povezan s učestalošću recidiva i dužinom preživljavanja u polaznom istraživanju nasuprot očekivanju nije pokazao statistički značajnu korelaciju sa stepenom imunohistohemijske ekspresije IMP3, što je objašnjeno činjenicom da su trostruko negativni karcinomi dojke uglavnom svrstani u kategoriju slabo diferentovanih tumora (gradus 2 i 3), te specifičnošću ispitivanog uzorka u kom nije bilo niti jedne bolesnice s dobro diferentovanim tumorom (gradus 1).

Ovakav rezultat polaznih istraživanja opravdava tendenciju za daljim istraživanjem IMP3 kao molekularnog markera u pravcu određivanja njegove potencijalne uloge kao nezavisnog prognostičkog pokazatelja za TNBC, analizom povezanosti sa parametrima preživljavanja - preživljavanjem do povratka bolesti (DFS) i ukupnim preživljavanjem (OS).

B2. Cilj istraživanja

1. Povezanost kliničkih (veličina tumora), demografskih (dob) i patohistoloških karakteristika tumora (histološki tip, stepen diferencijacije, nalaz vaskularne invazije) sa pokazateljima preživljavanja: dužinom ukupnog preživljavanja (OS) i

- preživljavanja bez znakova progresije bolesti (DFS).
2. Povezanost stepena imunohistohemijske ekspresije IMP3 proteina sa pokazateljima preživljavanja: dužinom ukupnog preživljavanja (OS) i preživljavanja bez znakova progresije bolesti (DFS)
 3. Značaj imunohistohemijskog nivoa IMP3 proteina kao prognostičkog pokazatelja kod trostruko negativnih karcinoma dojke.

Hipoteze:

1. Povećana ekspresija IMP3 u vezi je sa kraćim preživljavanjem do progresije bolesti (DFS) i kraćim ukupnim preživljavanjem (OS) pacijentkinja sa TNBC.
2. IMP3 je negativan nezavisni prognostički pokazatelj kod TNBC.
3. TNBC je heterogena grupa tumora koja se na osnovu imunohistohemijske ekspresije IMP3 može dalje podijeliti na podgrupe koje se razlikuju po prognozi.

B3. Metode i plan istraživanja

U istraživanje će biti uključene sve bolesnice oboljele od karcinoma dojke koje su operisane na Klinici za kirurgiju KBC Split, u periodu od 01.01.2003. – 31.12.2009. godine, čiji je operativni materijal analiziran u Kliničkom zavodu za patologiju, sudsku medicinu i citologiju i postavljena dijagnoza karcinoma dojke sa trostruko negativnim imunofenotipom.

Kao izvor podataka biće korišćena medicinska dokumentacija (istorije bolesti bolesnica liječenih u Centru za tumore KBC Split). Biće korišćeni klinički podaci o starosnoj dobi bolesnica, datumu operacije, kliničkom stadijumu bolesti, primijenjenom hirurškom i onkološkom liječenju, toku bolesti (pojavi recidiva, metastaza i dužini perioda bez znakova progresije bolesti), te ishodu bolesti.

Biće pregledana arhivirana patohistološka stakla, određen histološki tip tumora, stepen diferencijacije, prisustvo bazalne morfologije, postojanje vaskularne invazije, provjerena i po potrebi ponovo određena ekspresija IMP3 proteina, estrogenskih i progesteronskih receptora, te HER2/neu status.

Reprezentativni rezovi tumorskog tkiva su bojani primjenom imunohistohemijske LSAB metode, prema standardnom protokolu, u Laboratoriji za imunohistokemiju Kliničkog zavoda za patologiju, sudsku medicinu i citologiju KBC Split.

Uzorci tumora za analizu dobijeni su 3-50 rezovima arhiviranih parafinskih blokova, te bojani standardnom metodom hemalaun-eozin i imunohistohemijski, primjenom antitijela na IMP3 protein (DAKO, Glostrup, Danska) u razrjeđenju 1:150.

Kao nadogradnja na polazna istraživanja u kojima je određena značajnost razlike kvalitativnih varijabli (starost - godine), veličina tumora u cm), i kvantitativnih varijabli (histološki tip, stepen diferencijacije, nalaz vaskularne invazije) kod TNBC i njihova korelacija sa stepenom imunohistohemijske ekspresije IMP3, u ovom istraživanju biće urađena analiza preživljavanja prema svim navedenim varijablama. Za analizu preživljavanja koristiće se Kaplan-Meierova metoda i log-rank test.

Biće ispitan uticaj pomenutih varijabli na preživljavanje i relativni rizik smrtnog ishoda i povratka bolesti korišćenjem Coxove uninominalne i multinominalne analize. Zaključivanje o statističkim hipotezama u ovom radu sprovedeće se uz nivo značajnosti $p \leq 0.05$.

B4. Naučni doprinos

Obzirom da je karcinom dojke najčešći maligni tumor u ženskom dijelu populacije, samim tim i trostruko negativni karcinomi dojke predstavljaju veliki zdravstveni problem u svijetu. Terapijske opcije za pacijentkinje koje boluju od TNBC u svijetu, pa i na našim prostorima su još uvijek ograničene na mali broj standardnih hemioterapijskih agenasa koji, bez obzira na često inicijalno dobar odgovor, daju vrlo ograničene ukupne terapijske rezultate.

Nedostatak poznatih molekularnih markera značajno ograničava terapijske mogućnosti kod TNBC. To je ključni razlog izuzetne aktuelnosti ove teme, velikog broja istraživanja, ali još uvijek nedovoljno snažnih rezultata.

Upravo ispitivanje novog molekularnog markera (kao što je IMP3), i njegova korelacija sa parametrima koji definišu preživljavanje (DFS i OS) stvara se podloga za predviđanjem ishoda bolesti već u samom momentu postavljanja dijagnoze. Te je najveći značaj ovog istraživanja u otkrivanju faktora prognoze bolesti kod pacijentkinja sa TNBC.

Istraživanje koje dokazuje prognostičku značajnost IMP3 u odnosu na pokazatelje preživljavanja (DFS i OS) očekuje se da će dati značajan doprinos i u smislu definisanja sasvim nove klasifikacije trostruko-negativnih karcinoma dojke u odnosu na prognozu bolesti.

Kroz analizu preživljavanja (DFS i OS) u odnosu na ekspresiju IMP3 u trostruko negativnim karcinomima dojke, ovo istraživanje će zasigurno dati doprinos u boljem razumijevanju mehanizama kancerogeneze u ovom podtipu karcinoma dojke, te otkrivanje nove mete (target-a) za budući razvoj imunoterapija, koje bi bile od velikog značaja u liječenju pacijentkinja sa trostruko negativnim karcinomom dojke.

Ultimativno, kroz dobijene rezultate prognostičkog značaja IMP3, definisaće se novi potencijalni marker, koji bi eventualno mogao biti korišćen u svakodnevnoj praksi, kao parametar koji će dopuniti uobičajenu morfološku analizu i na taj način omogućiti predikciju ove bolesti.

Obzirom na vrlo mali broj dostignuća koja su dala brojna istraživanja u oblasti trostruko negativnog karcinoma dojke sprovedena širom svijeta u proteklih nekoliko decenija, mišljenja smo da će ovo istraživanje dati poseban naučni doprinos od značaja na regionalnom nivou.

B5. Finansijska i organizaciona izvodljivost istraživanja

Istraživanje će biti sprovedeno na Kliničkom zavodu za patologiju, sudsku medicinu i citologiju KBC-a Split.

Troškove istraživanja i ostale troškove tokom procesa do sticanja doktorskog zvanja snosi sam doktorant.

Prikaz troškova za materijal potreban za realizaciju istraživanja, bez putnih troškova.

Imunohistohemijsko ispitivanje IMP3	količina	cijena HR Kune	Cijena EUR	Cijena HR Kune	Total EUR
Primarno antitijelo	2	6.000,00	798,82	12.000,00	1597,7
Sekundarno antitijelo	1	17.000,00	2.263,33	34.000,00	4526,66
Stakalca i propratni materijal	85 pločica	2.300,00	306,22	2.300,00	306,22
Set reagenasa za imunohistohemiju	1 komad/ 85 pločica	6.712,40	893,67	6.712,40	893,67
Tehničar	85 pločica	11.27	957,66	1,5	127,5
Statistička obrada					670,00
Total					8.121,75
Mišljenje i prijedlog komisije					
<p>Kandidatkinja dr Nikoleta Sjekloća javno je obrazložila predloženu temu dotkroske disertacije „Prognostički značaj IMP3 i uticaj na preživljavanje kod pacijentkinja sa trostruko negativnim karcinomima dojke“.</p> <p>Predložena i obrazložena tema je veoma aktuelna i značajna, s obzirom da se bazira na proučavanju TNBC, podtipa najčešćeg malignog tumora u ženskom dijelu populacije. U doktoskoj disertaciji bice analiziran povezanost IMP3 sa DFS i OS. Studija je dobro dizajnirana, sa jasnim metdološkim pristupom i ciljevima .</p> <p>S toga, komisija je saglasna da su se stekli svi uslovi za sporovođenje istraživanja, koje će zasigurno dati kvalitetnu doktorsku disertaciju i pružiti značajan naučni doprinos.</p>					
Predlog izmjene naslova					
/					
Prijedlog promjene mentora i/ili imenovanje drugog mentora					
/					
Planirana odbrana doktorske disertacije					
Godina 2019.					
Izdvojeno mišljenje					
(popuniti ukoliko neki član komisije ima izdvojeno mišljenje)					

Ime i prezime		
Napomena		
/		
ZAKLJUČAK		
Predložena tema po svom sadržaju odgovara nivou doktorskih studija	DA	NE
Tema omogućava izradu originalnog naučno-istraživačkog rada koji odgovara međunarodnim kriterijumima kvaliteta disertacije.	DA	NE
Kandidat može na osnovu sopstvenog akademskog kvaliteta i stečenog znanja da uz adekvatno mentorsko vođenje realizuje postavljeni cilj	DA	NE
Komisija za ocjenu podobnosti teme i kandidata		
Prof. Dr sci. Filip Vukmirović, Crna Gora, redovni profesor patologije na Medicinskom fakultetu u Podgorici, specijalista patologije	<i>Filip Vukmirović</i>	
Pro Dr sci. Snježana Tomić, Hrvatska, Redovni profesor patologije na medicinskom fakultetu u Splitu. Specijalista patološke anatomije - mentor	<i>Snježana Tomić</i>	
Prof Dr sci. Olivera Miljanović, Specijalista pedijatrije i medicinske /kliničke genetike Medicinski fakultet Univerziteta Crne Gore	<i>Olivera Miljanović</i>	
Doc dr Ljiljana Vučković, Specijalista patologije Medicinski fakultet Univerziteta Crne Gore	<i>Ljiljana Vučković</i>	
U Podgorici, 14.06.2018.		



PRILOG

PITANJA KOMISIJE ZA OCJENU PODOBNOSTI TEME I KANDIDATA	
Prof. Dr sci. Filip Vukmirović	Koliko je bilo vrijeme praćenja pacijentkinja obuhvaćenih istraživanjem, na osnovu kojeg je vršeno zaključivanje na nivou parametara preživljavanja.
Doc dr Ljiljana Vučković	Da li postoje podaci o dosadašnjim istraživanjima ekspresije IMP3 i u kojim vrstama tumora?
Doc dr Olivera Miljanović	Kakvi su do danas objavljeni rezultati uticaja IMP3 na parametre preživljavanja?
Prof. Dr sci. Snježana Tomić	U slučaju dostizanja ciljeva istraživanja, koji su sljedeći koraci istraživanja kod TNBC?
PITANJA PUBLIKE DATA U PISANOJ FORMI	
(Ime i prezime)	/
(Ime i prezime)	/
(Ime i prezime)	/
ZNAČAJNI KOMENTARI	

