

**UNIVERZITET CRNE GORE  
MEDICINSKI FAKULTET**

Broj: 3938

**Podgorica, 25.10.2017. godine**

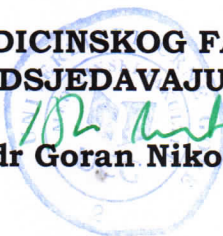
Na osnovu člana 64 i 65 Statuta Univerziteta Crne Gore i člana 35 Pravila doktorskih studija, Vijeće Medicinskog fakulteta u Podgorici, na sjednici održanoj 25.10.2017. godine, donijelo je

**M I Š L J E N J E**

- 1. USVAJA SE** Izveštaj Komisije za ocjenu podobnosti teze doktorske disertacije i kandidata **dr Nikolette Sjekloća**, br.3037 od 14.09.2017.godine.
- Na prijedlog Komisije, prihvata se teza **“Prognostički značaj IMP3 i uticaj na preživljavanje kod pacijentkinja sa trostruko negativnim karcinomima dojke“** za izradu doktorske disertacije.
- Mišljenje Vijeća i Izvještaj o ocjeni podobnosti teze doktorske disertacije i kandidata imenovanog u tački 1 ovog Mišljenja, dostavlja se Centru za doktorske studije, na dalju realizaciju.

**VIJEĆE MEDICINSKOG FAKULTETA  
PREDSJEDAVAJUĆI,**

**Acc. prof. dr Goran Nikolić, dekan**



18.10.2017			
Broj lista	Str.	Prilog	Vrijednost
Med.	3826		

**MEDICINSKI FAKULTET  
UNIVERZITET CRNE GORE****Obrazloženje izmjene Obrasca D1 – Ocjena podobnosti teme doktorske disertacije i kandidata od 23.03.2017. godine**

Podgorica, 16.10.2017.

Na osnovu zahtjeva članova komisije Centra za doktorske studije, Univerziteta Crne Gore, u prethodno podnešenom Obrascu D1 - Ocjena podobnosti teme doktorske disertacije i kandidata od 23.03.2017. godine, izvršili smo sljedeće izmjene detaljnije navedene u ponovo priloženom Obrascu D1:

**U dijelu B1 Obrasca – Obrazloženje teme:**

U skladu sa temom i ciljevima koje će obrađivati doktorska disertacija, naglasili smo značaj pronalazjenja novih molekularnih markera koji bi imali prognostički i prediktivni značaj, te omogućili dodatnu subklasifikaciju trostruko negativnih karcinoma dojke (TNBC), a sve u cilju prognostičke stratifikacije i pronalazjenja efikasnih metoda liječenja.

Kao dokaz inovativnosti teme, naveli smo dosadašnja malobrojna dostignuća po pitanju značaja ispoljenosti IMP3 biomarkera u raznim malignim tumorima uključujući i trostruko negativni karcinom dojke, i postavili ciljeve koji će dati značajan doprinos do danas u nauci postojećim saznanjima o značaju ovog biomarkera u trostruko negativnim karcinomima dojke.

**U dijelu B3 Obrasca – Ciljevi istraživanja:**

Kako bi naše istraživanje bilo inovativno, navodimo da će cilj našeg istraživanja biti ispitivanje korelacije između stepena ispoljenosti sasvim u nauci novog bio-markera IMP3 u trostruko negativnim karcinomima dojke sa parametrima preživljavanja pacijenata i to sa ukupnim preživljavanjem (OS) i preživljavanjem bez progresije bolesti (PFS).

Takođe, na osnovu stepena ispoljenosti IMP3 i korelacije sa navedenim faktorima preživljavanja, cilj nam je definisati prognostički značaj IMP3 kod TNBC.

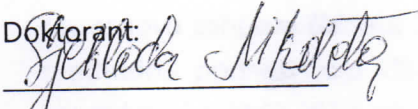
**U dijelu B4 Obrasca – Naučni doprinos**

Smatramo da ćemo na kraju ovako koncipiranog istraživanja, biti u mogućnosti da utvrdimo prognostički značaj IMP3 kao novo biomarkera kod trostruko negativnih karcinoma dojke, tj uticaj njegove ispoljenosti na preživljavanje kod pacijentkinja sa TNBC. Takođe, smatramo i

navodimo u Obrascu D1, da će nam rezultati ovakvog istraživanja omogućiti novu sub-klasifikaciju ove heterogene grupe tumora.

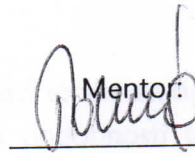
Očekujemo i navodimo u Obrascu D1 da će rezultati našeg istraživanja dati značajan doprinos i unaprijediti naučna saznanja u oblasti do danas slabo istražene teme trostruko negativnih karcinoma dojke, te da će ovo istraživanje otvoriti nove teme ka rasvjetljavanju prirode i potencijalno terapije TNBC.

Doktorant:



dr. Nikoleta Sjekloća

Mentor:



Prof. Dr. Snježana Tomić

MEDICINSKI FAKULTET



Primjeno.	24.03.2017		
Org. jed.	Broj	Prilog	Vrijednost
Med.	799		

UNIVERZITET CRNE GORE

Obrazac D1: Ocjena podobnosti teme i kandidata

## 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: Imunohistochemijski 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 »Imunohistochemijski nivo IMP3 proteina u trostruko negativnim karcinomima dojke«, kandidata dr med Nikoleta Sjekloća, počela je 07.06.2016. godine u 12,00 časova, pred Komisijom u sastavu:	
<ol style="list-style-type: none"> <li>1. Prof. dr Vladimir Todorović – predsjednik</li> <li>2. Prof. dr Snježana Tomić – mentor</li> <li>3. Prof. dr Filip Vukmirović – član</li> <li>4. Doc. dr Olivera Miljanović – član</li> <li>5. Acc. prof. dr Goran Nikolić - član</li> </ol>	
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.	

Obrazac D1: Ocjena podobnosti teme i kandidata

Nakon saslušanog izlaganja doktoranta, članovi Komisije postavili su pitanja u pisanom obliku (pitanja su 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 u Oktobru 2005. godine (1). Do danas, ovaj termin se pominje u više od 600 publikacija (2).

Jedan od prvih pronalazaka na molekularnom nivou kod trostruko negativnih karcinoma dojke, bio je pronalazak BRCA1 mutacije gena koji učestvuje u mehanizmu reparacije DNK obezbjeđuje stabilnost ovog molekula. (3-6).

Studije su pokazale da trostruko negativni karcinomi dojke čine 12 - 17% svih karcinoma dojke (7). To je heterogena grupa tumora koja se povezuje sa agresivnijim kliničkim tokom (3,8). Češće metastaziraju hematogenim putem u pluća i mozak, dok su metastaze u lokoregionalne limfne čvorove rjeđe u poređenju sa ostalim tumorima dojke (4).

Uprkos dobrom inicijalnom odgovoru na neoadjuvantnu hemioterapiju, pacijentkinje sa ovim tipom tumora imaju višoj stopu udaljenih metastaza i ultimativno lošiju prognozu (7-9).

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 (4).

Usljed specifične prirode ove bolesti i loše prognoze, postoji velika potreba za boljim razumijevanjem molekularne osnove TNBC i pronalazanjem novih molekularnih markera koji bi imali prognostički i prediktivni značaj, te omogućili dodatnu subklasifikaciju ovih tumora, a sve u cilju pronalazanja efikasnih metoda liječenja (3,4,10-14).

TNBC u brojnim studijama udruženi su sa lošijim OS i DSF u poređenju sa ostalim tipovima, što će biti predmet našeg daljeg istraživanja (9,15).

U cilju predviđanja ishoda bolesti kao i stepena rizika od pojave recidiva i odgovora na primijenjenu terapiju u upotrebi su prognostički faktori. U literaturi je opisan veliki broj prognostičkih faktora koji utiču na dužinu preživljavanja pacijentkinja operisanih od karcinoma dojke (3).

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. Na osnovu prediktivnih faktora procjenjuje se odgovor na određene vrste liječenja, a najznačajniji prediktivni faktori su: estrogenski (ER) i progesteronski receptori (PR), HER2 status i proliferacijski indeks Ki-67 (16).

Osm pomenutih klasičnih prognostičkih faktora, u posljednjih desetak godina ulaže se u ispitivanje specifičnih biomarkera i njihovog prognostičkog i prediktivnog značaja za karcinom dojke.

U našem istraživanju odlučili smo se za praćenje prognostičke značajnosti IMP3 (Insulin-like growth factor II mRNA binding protein 3), kao i uticaju na pokazatelje preživljavanja.

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 (17). IMP3 protein funkcioniše kao kontrolor procesa translacije na nivou mRNK.

Ekspresija IMP3 je 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 (18).

Kao takava, povećana ekspresija IMP3 je povezana sa agresivnim ponašanjem tumora, uznapređovalim kliničkim stadijumom bolesti, nalazom udaljenih metastaza i kraćim ukupnim preživljavanjem (19,20).

Kada govorimo o klasičnim prognostičkim faktorima, veličina primarnog tumora je vrlo značajan prognostički faktor kod karcinoma dojke uopšte. Generalno se smatra da je prognoza bolja što je tumor manji i u većini radova se pokazao kao značajan u dužini preživljavanja. U istraživanju koje smo prethodno sproveli na istom uzorku, dokazali smo da je veličina tumora faktor koji statistički značajno korelira sa stepenom ispoljenosti IMP3 u tkivu trostruko negativnih karcinoma dojke.

Histološki gradus tumora izuzetno je značajan prognostički faktor kod TNBC. Prognostički su najpovoljniji tumori prvog gradusa. Loše diferentovani tumori gradusa III udruženi su sa kratkim intervalom do rekurencije bolesti i kraćim ukupnim preživljavanjem u odnosu na graduse 1 i 2. Histološki gradus je značajno povezan s učestalošću recidiva i dužinom preživljavanja (17).

U našem polaznom istraživanju histološki gradus nije pokazao statistički značajnu korelaciju sa stepenom IMP3 ispoljenosti, što se objašnjava specifičnošću uzorka ispitanih pacijentkinja, u kom nije učestvovala niti jedna pacijentkinja sa gradusom 1 trostruko negativnog karcinoma dojke.

Faktor o čijem prognostičkom značaju postoji jedinstveno mišljenje je klinički stadijum bolesti, tj. prisustvo ili odsustvo lokoregionalnih i udaljenih metastaza kod karcinoma dojke (21).

U našem polaznom istraživanju dokazali smo da je prisustvo metastaza trostruko negativnog karcinoma dojke udruženo sa visokom ispoljenošću IMP3 kao novog biomarkera čiji prognostički značaj kod trostruko negativnih karcinoma dojke želimo dalje ispitati u našoj doktorskoj tezi.

U istraživanju koje smo prethodno sproveli, a koje je bilo osnova za našu doktorsku tezu, pokazalo se da ispitanice sa bazalnim fenotipom koja je pokazatelj loše prognoze imaju visoku ispoljenost IMP3.

Istraživanje koje smo prethodno sproveli, kao i evaluacija malobrojnih radova na temu trostruko negativnog karcinoma dojke, bile su osnova da u ovom istraživanju fokus stavimo na ispoljenost IMP3 kod trostruko negativnih karcinoma dojke i njegovu korelaciju sa parametrima preživljavanja, preživljavanjem bez progresije bolesti i ukupnim preživljavanjem.

## B2. Cilj istraživanja

1. Povezanost kliničkih (veličina tumora), demografskih (dob) i patohistoloških (histološki tip, stepen diferencijacije, nalaz vaskularne invazije) i imunohistohemijskog nivoa IMP3 proteina sa dužinom ukupnog preživljavanja i preživljavanja bez znakova progresije bolesti.
2. Značaj imunohistohemijskog nivoa IMP3 proteina kod trostruko negativnih karcinoma dojke, kao prognostičkog pokazatelja.

## B3. Metode i plan istraživanja

U studiju 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 kliničkom ishodu bolesti.

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

Reprezentativni rezovi tumorskog tkiva naknadno 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 3-5 $\mu$  rezovima arhiviranih parafinskih blokova, te bojani standardnom metodom hemalaun-eozin i imunohistohemijski, primjenom antitijela na IMP3 protein (DAKO, Glostrup, Danska) u razrjeđenju 1:150.

Od statističkih analiza za određivanje značajnosti razlike kvantitativnih varijabli: starost (godine), veličina tumora (u cm) u odnosu na ekspresiju IMP3 proteina korišćen je t - test, dok je za određivanje značajnosti razlike kvalitativnih varijabli (histološki tip, stepen diferencijacije, nalaz vaskularne invazije) u odnosu na ekspresiju IMP3 proteina korišćen hi-kvadrat test.

Za ispitivanje povezanosti svih pomenutih varijabli sa ekspresijom IMP3 korišćen je metoda logističke regresije.

U analizi preživljenja prema svim varijablama koristit će se Kaplan-Meierova metoda i log-rank test. Utjecaj ispitivanih varijabli na preživljenje i relativni rizik smrtnog ishoda i povratka bolesti analiziraćemo Coxovom uninominalnom i multinominalnom analizom.

Zaključivanje o statističkim hipotezama u ovom radu provest će se uz razinu značajnosti  $p \leq 0.05$ .

#### **B4. Naučni doprinos**

Ovim istraživanjem želimo dokazati da su trostruko negativni karcinomi dojke heterogena grupa koja će se na osnovu morfoloških i imunohistohemijskih karakteristika moći razdvojiti u različite podgrupe.

Želimo dokazati da će pacijentkinje sa trostruko negativnim karcinomom dojke u našoj studiji u oko 35% slučajeva pokazati povećanu ekspresiju IMP3.

Očekujemo da će povećana ekspresija IMP3 kod naših pacijentkinja biti češća kod pacijentkinja sa bazalnim imunofenotipom karcinoma dojke, kod pacijentkinja sa nižim stepenom diferencijacije tumora, te povećanom vaskularnom invazijom.

Želimo dokazati da je povećana ekspresija IMP3 kod trostruko negativnih karcinoma dojke povezana sa kraćim ukupnim preživljavanjem i preživljavanjem do progresije bolesti, odnosno, da je IMP3 negativan prognostički pokazatelj kod pacijentkinja sa trostruko negativnim karcinomom dojke.

Ovakav rezultat bio bi dokaz da je IMP3 bitan prediktivni faktor koji određuje prognozu ovih tumora. Takođe, IMP3 bi u ovom slučaju biopotencijalno doba meta ciljanih terapijskih agenasa i osnova za razvoj istih.

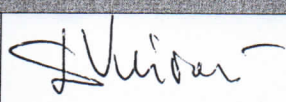
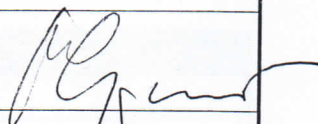
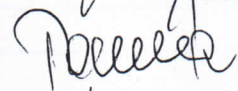
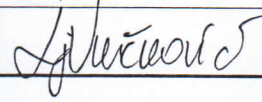
#### **B5. Finansijska i organizaciona izvodljivost istraživanja**

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

Prikaz troškova za material 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 prpratni 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	
<b>Total</b>					<b>8.121,75</b>	
<b>Mišljenje i prijedlog komisije</b>						
/						
<b>Predlog izmjene naslova</b>						
/						
<b>Prijedlog promjene mentora i/ili imenovanje drugog mentora</b>						
/						
<b>Planirana odbrana doktorske disertacije</b>						
II semestar 2017/ I semestar 2018.						
<b>Izdvojeno mišljenje</b>						
(popuniti ukoliko neki član komisije ima izdvojeno mišljenje)						
					Ime i prezime	
_____						
<b>Napomena</b>						
/						
<b>ZAKLJUČAK</b>						
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	
Prof. Dr sci. Olivera Miljanović, Specijalista pedijatrije i medicinske /kliničke genetike Medicinski fakultet Univerziteta Crne Gore	
Prof. Dr sci. Snježana Tomić, Hrvatska, Redovni profesor patologije na medicinskom fakultetu Splitu. Specijalista patološke anatomije	
Doc dr Ljiljana Vučković, Specijalista patologije Medicinski fakultet Univerziteta Crne Gore	
U Podgorici, 23.03.2017.	