

**УНИВЕРЗИТЕТ У КРАГУЈЕВЦУ
ФАКУЛТЕТ МЕДИЦИНСКИХ НАУКА
КРАГУЈЕВАЦ**

1. ОДЛУКА НАСТАВНО-НАУЧНОГ ВЕЋА

Одлуком Наставно-научног већа Факултета медицинских наука Универзитета у Крагујевцу, број 01-6596/3-5 од 10.07.2013. године, именовани су чланови комисије за оцену научне заснованости теме докторске дисертације кандидата др мед. Марка Буте, под називом:

„ ЗНАЧАЈ КЛАСИЧНИХ И МОЛЕКУЛАРНИХ (уПА, ПАИ-1 и катепсин Д) БИОМАРКЕРА КАРЦИНОМА ДОЈКЕ У БИОЛОШКОМ ТОКУ БОЛЕСТИ “

На основу одлуке Наставно-научног већа формирана је Комисија у саставу:

1. Проф. др Радан Цодић, редовни професор Медицинског факултета Универзитета у Београду за ужу научну област Хирургија-онкологија, председник

2. Доц. др Срђан Нинковић, доцент Факултета медицинских наука Универзитета у Крагујевцу, за ужу научну област Хирургија, члан

3. НС Милан Маркићевић, научни сарадник Института за онкологију и радиологију Србије, члан

На основу увида у приложену документацију, комисија подноси Наставно-научном већу Факултета медицинских наука Универзитета у Крагујевцу следећи:

**ИЗВЕШТАЈ О ОЦЕНИ НАУЧНЕ ЗАСНОВАНОСТИ ТЕМЕ ДОКТОРСKE
ДИСЕРТАЦИЈЕ**

Кандидат др мед. Марко Бута испуњава све услове предвиђене Законом о високом образовању и Статутом Факултета Медицинских наука у Крагујевцу за израду докторске дисертације.

2.1. КРАТКА БИОГРАФИЈА КАНДИДАТА

Др Марко Бута је рођен 16.08.1974.године у Београду где је завршио основну школу и прва два разреда IX Београдске Гимназије. Средњу школу завршио је у Сједињеним Америчким Државама, држава Џорџија (Evans High School) а потом стекао звање дипломирани биолог на Универзитету Џорџија 1995.године. Стекао је звање доктор медицине на Медицинском факултету у Београду 2002.године. Запослен је на Институту за онкологију и радиологију Србије од 2004.године. Положио је специјалистички испит из опште хирургије на Медицинском факултету у Београду 2012.године са одличном оценом. Академске 2008/2009.године уписао је Докторске академске студије на Медицинском факултету Универзитета у Крагујевцу, смер

клиничка и експериментална хирургија. Положио је све програмом студија предвиђене испите, као и усмени докторантски испит априла 2011.године. Учествовао је на домаћим и међународним симпозијумима и конгресима као слушалац и као усмени излагач. Учествовао је на пројекту “Молекуларни биомаркери раста, инвазивности и метастатичности канцера дојке: биолошки и клинички аспекти”, финансиран од стране Министарства за науку и технологију Србије, од 2006. до 2010. године. Такође учествује као истраживач EORTC-а на пројекту 18081: Adjuvant peg-Interferon alfa 2b for 2 years Vs. observation in patients with an ulcerated primary cutaneous melanoma with T (2-4)bNoMo. Био је члан радне групе за израду водича добре клиничке праксе за дијагностиковање и лечење рака дојке у току 2012.године. Аутор је или коаутор већег броја радова објављених у целини у домаћим и интернационалним часописима. Члан је ESSO (Европско удружење онколошких хирурга).

2.2. НАСЛОВ, ПРЕДМЕТ И ХИПОТЕЗЕ ДОКТОРСKE ТЕЗЕ

Наслов:

„Значај класичних и молекуларних (уПА, ПАИ-1 и катепсин Д) биомаркера карцинома дојке у биолошком току болести ”.

Предмет:

Ова студија ће се бавити утврђивањем значајности предложених биомаркера, у раном и/или касном периоду биолошког тока карцинома дојке у групи постменопаузних болесница и то:

- класичних параметара домаћина тумора (године),
- класичних параметара тумора (величина тумора, хистолошки градус и тип тумора),
- молекуларних показатеља естрогене зависности тумора (статус рецептора за естроген и рецептора за прогестерон) и молекуларних показатеља инвазивности малигних ћелија (уПА, ПАИ-1 и катепсин Д).

Хипотезе:

Значај класичних и молекуларних параметара прогнозе се разликује током раног праћења (између 1. и 5. године) у односу на касно праћење тока болести (између 5. и 10. године) у групи испитиваних (постменопаузних) болесница, у којој све болеснице без релапса имају временски истоветан (једнак) период праћења тока болести.

2.3. ПОДОБНОСТ КАНДИДАТА

Кандидат др Марко Бута је као први аутор објавио рад у целини у научном часопису са рецензијом, чиме је испунио услов за пријаву докторске тезе:

- **Buta M**, Ito Y, Radisavljevic Z, Milovanovic Z, Lavrnica D, Djuricic I, Oruci M, Pusic G, Dzodic R *Quadruple metachronous malignancy in a single patient with multiple sclerosis*. World Journal of Endocrine Surgery, May-August 2012;4(2);79-82. (Није на листи МНО за 2012. годину - 0 бодова)

Остали радови објављени у научним часописима:

1. Radovanović AB, Rasić D, **Buta M**, Dzodić R. *Breast cancer metastasis to the conjunctiva*. Vojnosanit Pregl. 2013 Mar;70(3):331-4. (**M23-3 бода**)

2. Radenkovic S, Milosevic Z, Konjevic G, Karadzic K, Rovcanin B, **Buta M**, Gopcevic K, Jurisic V. *Lactate dehydrogenase, Catalase, and Superoxide dismutase in Tumor Tissue of Breast Cancer Patients in Respect to Mammographic Findings* Cell Biochem Biophys. 2012 Nov 30. (M22-5 бодова)
3. Oruci M, Ito Y, **Buta M**, Radisavljevic Z, Pupic G, Djuriscic I, Dzodic R. *Right thyroid hemiagenesis with adenoma and hyperplasia of parathyroid glands -case report.* BMC Endocr Disord. 2012 Nov 13;12(1):29. (M23-3 бода)
4. Stanojevic B, Dzodic R, Saenko V, Milovanovic Z, Krstevski V, Radlovic P, **Buta M**, Rulic B, Todorovic L, Dimitrijevic B, Yamashita S. *Unilateral follicular variant of papillary thyroid carcinoma with unique KRAS mutation in struma ovarii in bilateral ovarian teratoma: a rare case report.*BMC Cancer. 2012 Jun 8;12:224. (M21-8 бодова)
5. Dzodic R, Markovic I, Stanojevic B, Saenko V, **Buta M**, Djuriscic I, Oruci M, Pupic G, Milovanovic Z, Yamashita S. *Surgical management of primary thyroid carcinoma arising in thyroglossal duct cyst: an experience of a single institution in Serbia.*Endocr J. 2012 Jun 30;59(6):517-22. (M23-3 бода)
6. Erić-Nikolić A, Milovanović Z, Sánchez D, Pekáriková A, Džodić R, Matić IZ, Tučková L, Jevrić M, **Buta M**, Rašković S, Juranić Z. *Overexpression of calreticulin in malignant and benign breast tumors: relationship with humoral immunity.*Oncology. 2012;82(1):48-55. (M23- 3 бода).
7. Stanojevic B, Dzodic R, Saenko V, Milovanovic Z, Pupic G, Zivkovic O, Markovic I, Djuriscic I, **Buta M**, Dimitrijevic B, Rogounovitch T, Mitsutake N, Mine M, Shibata Y, Nakashima M, Yamashita S. *Mutational and clinico-pathological analysis of papillary thyroid carcinoma in Serbia.* Endocr J. 2011;58(5):381-93.(M23-3 бода)
8. Dzodic R, Stanojevic B, Saenko V, Nakashima M, Markovic I, Pupic G, **Buta M**, Inic M, Rogounovitch T, Yamashita S. *Intraductal papilloma of ectopic breast tissue in axillary lymph node of a patient with a previous intraductal papilloma of ipsilateral breast: a case report and review of the literature.* Diagn Pathol. 2010 Mar 12;5:17. (M23-3 бода)

2.4. ПРЕГЛЕД СТАЊА У ПОДРУЧЈУ ИСТРАЖИВАЊА

Примарни операбилни инвазивни карцином дојке представља биолошки и биохемијски хетерогено обољење, што се манифестује хетерогеним током болести, односно неизвесношћу у погледу предвиђања појаве удаљених метастаза. Стога је од велике важности повезати биолошку агресивност болести (изражену помоћу класичних и молекуларних биомаркера) са њеном клиничком агресивношћу (израженом као време до појаве метастазе). Овај циљ се, најверодостојније, може постићи посматрајући биолошки ток болести, тј. ток болести на који адјувантна терапија није утицала. Осамдесетих година прошлог века, консензус који се односио на лечење операбилног инвазивног карцинома дојке у рNo стадијуму је налагао да се не примењује адјувантна терапија а овакав став се заснивао на чињеници да ће се код приближно 30 % ових болесница развити удаљене метастазе током 10-огодишњег праћења тока болести (Schmidt M и сар., 2009). Данас је, у клиничкој пракси, прихваћен консензус за лечење болесница оболелих од карцинома дојке по коме се адјувантна терапија примењује у наведеној подгрупи болесница (NCCN Clinical Practice Guidelines in Oncology (Breast

Cancer Version 1.2012). Као резултат тог консензуса, око 70 % болесница које припадају овој ниско-ризичној подгрупи бива подвргнуто адјувантној терапији, упркос чињеници да се метастазе неће развити током дуготрајног праћења. Оправдање за овакав став се може наћи у чињеници да се на основу класичних биомаркера, као ни на основу молекуларних, не могу дефинисати подгрупе болесница са опречним (високим/ниским) ризиком за појаву удаљених метастаза у примарном операбилном карциному дојке са одсуством малигнух ћелија у регионалним лимфним чворовима.

Имајући у виду резултат студије (Souza AP и сар., 2009) који указује да је ток болести пацијенткиња без адјувантне терапије неповољнији у подгрупи болесница са високим експресијом рецептора за естроген, у овом истраживању би се испитивао прогностички значај протеаза (уПА, ПАИ-1 и катепсин Д) у групи постменопаузних пацијенткиња, која је карактеристична по повећаној експресији рецептора за естроген у односу на групу пременопаузних пацијенткиња.

2.5. ЗНАЧАЈ И ЦИЉ ИСТРАЖИВАЊА СА СТАНОВИШТА АКТУЕЛНОСТИ У ОДРЕЂЕНОЈ НАУЧНОЈ ОБЛАСТИ

Општи циљ овог истраживања је да се на основу нових стратегија, заснованих на повезивању експерименталне и клиничке онкологије, укаже на сврсисходност утврђивања значајности предложених биомаркера, у раном и/или касном периоду биолошког тока карцинома дојке у групи постменопаузних болесница, и то: класичних параметара домаћина тумора (године), класичних параметара тумора (величина тумора, хистолошки градус и тип тумора), молекуларних показатеља естрогене зависности тумора (статус рецептора за естроген и рецептора за прогестерон) и молекуларних показатеља инвазивности малигнух ћелија (уПА, ПАИ-1 и катепсин Д). На посредан начин, овим истраживањем би било омогућено разматрање избора циљаних терапија у раном периоду праћења тока болести, са циљем да се спречи настанак удаљених метастаза, као најзначајнијег параметра за фатални исход болести, и у касном периоду праћења тока болести, како би се продужио ток болести без појаве удаљених метастаза.

2.6. ВЕЗА СА ДОСАДАШЊИМ ИСТРАЖИВАЊИМА

У овом истраживању би се, такође, анализирао значај класичних индикатора прогнозе (године, величина тумора, хистолошки градус, хистолошки тип, експресија рецептора за естроген и статус рецептора за прогестерон) и молекуларних биомаркера инвазивности (уПА, ПАИ-1 и катепсин Д) у оквиру 10-огодишњег клиничког праћења тока болести, раног (1. - 5. године) праћења тока болести и касног (5. - 10. године) праћења тока болести. Овакав захтев за анализу значаја биомаркера је заснован на резултатима који указују на постојање раног и касног периода у оквиру тока болести у коме долази до појаве удаљених метастаза, (Gao F и сар., 2007; Kimura M и сар., 2007), и на промену значаја биомаркера у зависности од периода праћења тока болести (Natarajan L и сар., 2009, Takeuchi H и сар. 2005), а за које се може сматрати да представљају основ за нове стратегије у онкологији.

2.7. МЕТОДЕ ИСТРАЖИВАЊА

А. ВРСТА СТУДИЈЕ

Клиничка експериментална студија

Нивои експресије стероидних рецептора, ЕР и ПР, као и уПА, ПАИ-1 и катепсин Д ће бити одређивани *in vitro* тј. у цитосолном екстракту узорака ткива карцинома дојке код пацијенткиња који су оперисани у стадијуму T1/2 N0 на Институту за онкологију и радиологију Србије.

Б. ИСПИТАНИЦИ

Студија ће обухватити постменопаузне пацијенткиње са раком дојке величине T1 и T2 које имају минимални период праћења од 10 година, лечене хируршки са или без радиотерапије, без примене адјувантне терапије (у складу са тадашњим протоколом за лечење рака дојке).

В. УЗОРКОВАЊЕ

Биће изабране болеснице лечене хируршки, са или без радиотерапије, без примене адјувантне терапије на Институту за онкологију и радиологију Србије.

Нивои експресије стероидних рецептора, ЕР и ПР, као и уПА, ПАИ-1 и катепсин Д ће бити одређивани у цитосолном екстракту узорака ткива карцинома дојке. На основу ставова и препорука ЕОРТЦ (скр. од енг. *EORTC-European Organization for Research and Treatment of Cancer*), концентрације ЕР и ПР ће се одређивати биохемијском методом, концентрација катепсина Д коришћењем ИРМА есеја, а концентрације уПА, ПАИ-1 употребом ЕЛИСА есеја.

Г. ВАРИЈАБЛЕ КОЈЕ СЕ МЕРЕ У СТУДИЈИ

Независне варијабле:

- старост (нумеричка скала- континуалне вредности),
- меностатус (номинална скала мерења- категоризоване вредности),
- величина тумора (ординална скала мерења),
- хистолошки градус тумора (ординална скала мерења),
- хистолошки тип тумора (номинална скала мерења- категоризоване вредности),
- ЕР (нумеричка скала- континуалне вредности),
- ПР (нумеричка скала- континуалне вредности),
- катепсин Д (нумеричка скала- континуалне вредности),
- уПА (нумеричка скала- континуалне вредности),
- ПАИ-1 (нумеричка скала- континуалне вредности).

Зависне варијабле:

- релапс (номинална скала мерења- категоризоване вредности).

Д. СНАГА СТУДИЈЕ И ВЕЛИЧИНА УЗОРКА

Довољан број јединица посматрања (испитаница са са раком дојке величине T1 и T2 лечених хируршки са или без радиотерапије, без примене адјувантне терапије) за процену заступљености релапса у дугорочном периоду праћења (10 година), израчунат на основу претпоставке о заступљености релапса код 30% испитаница, уз алфа грешку од 0.05 и прецизност од 8% је 126 испитаница. Узимајући у обзир могућност од 10% недостајућих података, укључен број испитаница би требао да буде 138.

Ђ. СТАТИСТИЧКА ОБРАДА ПОДАТАКА

У истраживању ће се користити следећи статистички тестови:

- Kolmogorov-Smirnov тест, за утврђивање да ли расподеле вредности концентрација молекуларних биомаркера одступају од нормалне расподеле,
- Mann-Whitney или Kruskal-Wallis тест, за упоређивање вредности концентрација молекуларних биомаркера између група болесница,
- Spearman-ов тест суме рангова, за одређивање повезаности између концентрација испитиваних молекуларних биомаркера,
- метода Kaplan-Meier, за одређивање вероватноће за интервал без поновне појаве болести у групама болесница,
- „лог-ранк“, тј. Mantel-Cox-ов тест, за упоређивање вероватноћа за интервал без поновне појаве болести између група болесница

2.8. ОЧЕКИВАНИ РЕЗУЛТАТИ ДОКТОРСKE ДИСЕРТАЦИЈЕ/ ИСТРАЖИВАЊА

Очекује се да резултати овог истраживања омогуће идентификовање високо- насрам ниско-ризичне подгрупе болесница са раним, операбилним карциномом дојке, и то како у раном тако и у касном праћењу биолошког тока болести. Подгрупе болесница оболелих од карцинома дојке које имају висок, односно, низак ризик за појаву удаљених метастаза би биле дефинисане на основу утврђене значајности како класичних тако и предложених молекуларних биомаркера.

Значај овог истраживања би се огледао у томе што би оно омогућило повезивање биолошке и клиничке агресивности карцинома дојке, а што би даље омогућило разматрање избора могућих циљаних терапија, у оквиру два временска периода тока болести који се одликују међусобно различитим прогностичким параметрима.

2.9. ОКВИРНИ САДРЖАЈ ДИСЕРТАЦИЈЕ

Рак дојке је најчешћа малигна болест у женској популацији али је излечива у високом проценту уколико се дијагностикује у раном стадијуму. Поред класичних фактора прогнозе (хистолошки и нуклеарни градус, величина тумора, лимфо-нодални статус) истражују се и нови прогностички маркери због чињенице да значајан број пацијената са карциномом дојке у раном стадијуму има микроскопске метастазе у тренутку дијагнозе.

Истраживање ће се обавити у виду клиничке експерименталне студије која ће обухватити постменопаузне пацијенткиње са раком дојке величине T1 и T2, pN0 које имају минимални дугорочни период праћења од 10 година, лечене хируршки са или без

радиотерапије на Институту за онкологију и радиологију Србије, без примене адјувантне терапије (у складу са тадашњим протоколом за лечење рака дојке). Нивои експресије стероидних рецептора, ЕР и ПР, као и уПА, ПАИ-1 и катепсина Д ће бити одређивани на материјалу хуманог порекла *in vitro* тј. у цитосолном екстракту узорака ткива карцинома дојке.

Очекује се дефинисање нискоризичне подгрупе у оквиру рN0 групе болесница са карциномом дојке које након хируршког лечења са или без радиотерапије могу да буду поштеђене адјувантне терапије, и високоризичне подгрупе која ће пак имати корист од адјувантног лечења.

У односу на биологију карцинома дојке, резултати ове дисертације би могли да укажу на значај одређених сигналних путева у раном, односно касном периоду праћења тока болести и да покрену нова истраживања у овој области.

2.10 ИМЕ МЕНТОРА/КОМЕНТОРА

Комисија предлаже за ментора ове докторске дисертације **Проф. др Радана Цодића**, редовног професора Медицинског факултета Универзитета у Београду за ужу научну област Хирургија-онкологија, и коментора **НС Милана Маркићевића**, за ужу научну област Експериментална онкологија.

2.11. НАУЧНА ОБЛАСТ ДИСЕРТАЦИЈЕ

Медицина. Ужа научна област: Онкологија

2.12. НАУЧНА ОБЛАСТ ЧЛАНОВА КОМИСИЈЕ

1. Проф. др Радан Цодић, редовни професор Медицинског факултета Универзитета у Београду за ужу научну област Хирургија-онкологија, председник.

2. Доц. др Срђан Нинковић, доцент Факултета медицинских наука Универзитета у Крагујевцу, за ужу научну област Хирургија, члан.

3. НС Милан Маркићевић, научни сарадник Института за онкологију и радиологију Србије, члан.

ЗАКЉУЧАК И ПРЕДЛОГ КОМИСИЈЕ

1. На основу досадашњег научног рада и публикованих радова др мед. Марко Бута испуњава све услове прописане Статутом Факултета медицинских наука Универзитета у Крагујевцу и Законом о високом образовању за одобрење теме и израду докторске дисертације.
2. Предложена тема је научно оправдана и оригинална, дизајн истраживања прецизно постављен, а научна методологија јасна и прецизна.
3. Комисија сматра да ће предложена докторска теза бити од научног и практичног значаја у проналажењу нових прогностичких маркера карцинома дојке, као и анализирању већ постојећих класичних параметара прогнозе, а у циљу бољег дефинисања фактора са значајним утицајем на избор онколошке терапије.
4. Комисија предлаже Наставно-научном већу Факултета медицинских наука Универзитета у Крагујевцу да прихвати пријаву теме докторске дисертације кандидата др мед. Марка Буте под називом „ **Значај класичних и молекуларних (уПА, ПАИ-1 и катепсин Д) биомаркера карцинома дојке у биолошком току болести** “ и одобри њену израду.

ЧЛАНОВИ КОМИСИЈЕ

Проф. др Радан Цодић, редовни професор Медицинског факултета Универзитета у Београду за ужу научну област Хирургија-онкологија, председник

Доц. др Срђан Нинковић, доцент Факултета медицинских наука Универзитета у Крагујевцу, за ужу научну област Хирургија, члан

НС Милан Маркићевић, научни сарадник Института за онкологију и радиологију Србије, члан

Београд,
06.09.2013. године