

**УНИВЕРЗИТЕТ У КРАГУЈЕВЦУ**  
**ФАКУЛТЕТ МЕДИЦИНСКИХ НАУКА**  
**НАСТАВНО-НАУЧНОМ ВЕЋУ**

**1. Одлука Већа за медицинске науке Универзитета у Крагујевцу**

Одлуком Већа за медицинске науке Универзитета у Крагујевцу, број IV-03-531/20 од 15.06.2016. године именовани су чланови комисије за оцену научне заснованости теме докторске дисертације кандидата **асист. др Бојана З. Милошевића**, под називом:

**„Експресија мамаглобина у ткиву као предиктора агресивности тумора дојке”**

Чланови комисије су:

1. **Проф. др Јасна Јевђић**, ванредни професор Факултета медицинских наука Универзитета у Крагујевцу за ужу научну област Хирургија, председник
2. **Доц. др Срђан Нинковић**, доцент Факултета медицинских наука Универзитета у Крагујевцу за ужу научну област Хирургија, члан
3. **Доц. др Владан Живаљевић**, доцент Медицинског факултета Универзитета у Београду за ужу научну област Хирургија, члан
4. **Проф. др Снежана Јанчић**, редовни професор Факултета медицинских наука Универзитета у Крагујевцу за ужу научну област Патолошка анатомија, члан
5. **Доц. др Гордана Радосављевић**, доцент Факултета медицинских наука Универзитета у Крагујевцу за ужу научну област Микробиологија и имунологија, члан

На основу увида у приложену документацију, Комисија подноси Наставно научно већу Факултета медицинских наука у Крагујевцу следећи

## 2. Извештај комисије о оцени научне заснованости теме докторске дисертације

Кандидат **асист. др Бојана З. Милошевић** испуњава све формалне услове предвиђене Законом о високом образовању, Статутом Универзитета у Крагујевцу и Статутом Факултета медицинских наука у Крагујевцу за пријаву теме докторске дисертације.

### 2.1 Кратка биографија кандидата

Асист. др Бојан З. Милошевић је рођен 11.07.1976. године у Крагујевцу. Основну школу и гимназију завршио је у Крагујевцу са одличним успехом. Медицински факултет Универзитета у Крагујевцу уписао је школске 1995/96. године, а дипломирао је школске 2001/02. године са просечном оценом 8,40 након шест година студирања. 2003. године завршио је школу Резервних Официра - Санитетске Службе ВМА. Одмах по дипломирању започео је стаж и уписао последипломске студије из Ургентне хирургије. Завршио је стаж и положио је стручни испит. Магистарску тезу под називом : « **Процена значаја појединих фактора у настајању, развоју и прогнози акутног билијарног перитонитиса** » одбранио је 07. 07. 2006. године пред комисијом којом је председавао академик проф. др Александар Димитријевић и тиме стекао академско звање **магистар медицинских наука**. Уписао је трећу годину Докторских академских студија, на Медицинском факултету Универзитета у Крагујевцу, изборно подручје Клиничка и експериментална хирургија. Запослен је од 2006. године у Клиничком центру у Крагујевцу, Клиника за хирургију. Октобра месеца 2008. године започео је специјализацију из опште хирургије на Медицинском факултету Универзитета у Београду. Положио је специјалистички испит из ОПШТЕ ХИРУРГИЈЕ дана 27.01.2014. године са **ОДЛИЧНИМ** успехом, чиме је стекао стручни назив специјалисте ОПШТЕ ХИРУРГИЈЕ. Члан је Српског лекарског друштва, Српског Панкреасног Клуба, European Pancreatic Club. Активно учествује од 2006. године у научно - истраживачком раду и извођењу практичне наставе на предмету Хирургија, Факултета медицинских наука у Крагујевцу, као и у организацији рада хируршке катедре. Одлуком Наставно – научног већа, број : 01-5389/5-3 од 28.05.2014. године , изабран је за асистента за ужу научну област Хирургија. Једногласном одлуком чланова Катедре за хирургију изабран је за секретара хируршке катедре. Учесник је пројекта Министарства науке Републике Србије III 41010 : "Биомаркери и биолошки активне супстанце у преклиничким и

клиничким испитивањима пацијената са малигним туморима", учествује као истраживач, у пројектном циклусу 2011-2016. Говори енглески и немачки језик, познаје рад на рачунару. Учесник је бројних стручних и научних усавршавања.

## **2.2 Наслов, предмет и хипотезе докторске тезе**

**Наслов:** „ Експресија мамаглобина у ткиву као предиктора агресивности тумора дојке”

**Предмет:** Упркос напретку који је постигнут у лечењу карцинома дојке очигледан је висок морталитет и морбидитет када је у питању ова болест, тако да је неопходно даље изучавање на овом пољу у циљу проналажења нових маркера као предиктора агресивности болести. Хумани мамаглобин се сматра једним од најзначајнијих маркера хематогене дисеманације карцинома дојке. Предмет студије је анализа нивоа мамаглобина у туморском и перитуморском ткиву дојке, њихова корелација са другим маркерима који утичу на појави рецидива тумора и метастазирање, као што су Ki 67 и E-Cadherin, што би директно утицало на избор одговарајућег модалитета лечења.

### **Хипотезе:**

1. Ниво мамаглобина у туморском и перитуморском ткиву код пацијета са карциномом дојке корелира са степеном агресивности болести
2. Однос нивоа мамаглобина у туморском и перитуморском ткиву у корелацији са осталим маркерима канцерогенезе има улогу у исходу лечења и прогнози болести код пацијета са карциномом дојке
3. Ниво мамаглобина у туморском и перитуморском ткиву код пацијета са карциномом дојке корелира са одређеним патохистолошким типовима
4. Ниво мамаглобина у туморском и перитуморском ткиву чак и код пацијената код којих је постигнута R0 хируршка ресекција може указати на постојање системске болести

## 2.3 Испуњеност услова за пријаву теме докторске дисертације

Кандидат је објавио рад у целини у научном часопису међународног значаја категорије M23 у коме је први аутор, чиме је испунио услов за пријаву докторске тезе:

**Milošević Z. Bojan**, Marković M. Rade, Cvetković M. Aleksandar. Solid and Cystic Pseudopapillary Tumor of the Pancreas: A Case Report. *Srp. Arh. Celok. Lek.* 2013; 141(5-6): 392-394. **M 23- 3**

## 2.4. Преглед стања у подручју истраживања

Карцином дојке је водећи узрок смрти узроковане карциномском болешћу у САД са преко 230,000 новодијагностикованих пацијената у 2014-ој години и са готово 40,000 смртних исхода. Упркос напретку који је постигнут коришћењем бројних хормонских, генских и молекуларних маркера (естроген рецептор, прогестреон рецептор, HER2, Ki67, итд. ) очигледан је висок морталитет и морбидитет када је у питању ова болест, тако да је неопходно даље изучавање на овом пољу у циљу проналажења нових маркера као предиктора агресивности карциномске болести дојке. Кроз историјат хирургије дојке сачињени су бројни системи класификације карцинома у циљу оптималног избора лечења. Карцином дојке је на основу патохистолошких карактеристика као најзначајнијег параметра класификације био подељен на инвазивни дуктани карцином ( преко 80% укупног броја), инвазивни лобуларни са око 10% учешћа док осталих 10% чине сви остали хистолошки типови који су ређе заступљени. Са напретком медицине дошло се до појма индивидуализације терапије, тј избора третмана који би одговарао сваком појединачном пацијенту. Данас је актуелно молекуларно профилисање на основу кога се карцином дојке као једна врло хетерогена група дели на најмање 6 подтипова (normal like, luminal A, luminal B, HER2 enriched, claudin low, and basal like). Ова класификација има импликације на избор терапијског модалитета и последично на исход лечења. Хумани мамаглобин је члан утероглобинске групе протеина који се у литератури често наводи као маркер специфичан за карцином дојке. Док се ниски нивои мамаглобина могу наћи у здравом ткиву дојке, његова експресија је драматично повишена код пацијената са карциномом дојке. Његова детекција у крви је у вези са појавом метастаза, а његов ниво утиче на прогнозу болести. Watson и Fleming су 1994-те године методом ПЦР ( polymerase chain reaction) изоловали ланац цДНК која је кодирала протеин, данас познат као хумани мамаглобин (hMAG). Осим у ткиву дојке, hMAG-B подтипа (hMAG B-1 и B-2)

је такође детектован и у ткиву карцинома ендометријума и оваријума. У литератури се често користи различита номенклатура када је у питању мамаглобин, тако да поред hMAG можемо срести бројне скраћенице као што су: MAM, MGB, UGB3, MMG, SCGB2A1. Хумани мамаглобини А и В су хомологни чланови велике фамилије протеина са великим значајем у дијагностици и прогнози исхода лечења пацијената са карциномом дојке. Системска адјувантна терапија може да допринесе ерадикацији резидуалних карциномских ћелија које су се већ прошириле до удаљених ткива и органа. Ови потенцијални фокуси тумора могу дуго остати аваскуларни и клинички неми али задржавају потенцијал за раст и размножавање тако да се могу активирати и после више година. Хумани мамаглобин (hMAM) је експримиран у мањој концентрацији у нормалном ткиву дојке, али је у карциномском ткиву дојке његова концентрација повишена, док у крви и коштаном сржи здравих пацијената није присутан. Показао се као значајан предиктор јављања метастаза у костима код пацијената са карциномом дојке. Хумани мамаглобин се сматра једним од најзначајнијих маркера хематогене дисеманације карцинома дојке. Циљ је анализа нивоа мамаглобина у туморском и перитуморском ткиву дојке, њихова корелација са другим маркерима који утичу на појаву рецидива тумора и метастазирање, као што су Ki 67 и E-Cadherin, што би директно утицало на избор одговарајућег модалитета лечења.

## **2.5. Значај и циљ истраживања**

### **Циљеви.**

- 1) Сакупити узорке како карциномског тако и перитуморског ткива дојке пацијената са карциномом дојке и патохистолошки анализирати исте
- 2) Извршити лабораторијске анализе на материјалима хуманог порекла ради утврђивања нивоа мамаглобина у туморском и перитуморском ткиву.
- 3) Утврдити корелацију добијених нивоа мамаглобина у туморском и перитуморском ткиву са маркерима који су у корелацији са појавом удаљених метастаза (Ki 67, E-Cadherin)
- 4) На основу наведеног извести закључке који могу значајно утицати на избор одговарајућег терапијског модалитета

**Значај.** Одређивање нивоа мамаглобина у туморском и перитуморском ткиву у корелацији са осталим анализираним маркерима метастазирања код пацијената са карциномом дојке требало би да из врло хетерогене групе издвоји оне пацијенте коју су под повећаним ризиком од појаве рецидива болести и метастаза, што би за

последницу имало одлуку о раном радикалном адјувантном третману у циљу превенције развоја системске болести.

## **2.6 Веза истраживања са досадашњим истраживањима**

У литератури се може наћи више радова који се тичу анализе нивоа мамаглобина у периферној крви пацијената са карциномом дојке, мање је радова који описују ниво мамаглобина у самом туморском ткиву, док је најмање радова који се тичу испитивања нивоа мамаглобина у перитуморском ткиву. Клиничке студије сугеришу да велики број пацијената са карциномом дојке има системску болест и да код приближно 25–30% пацијента код којих су верификовани негативни лимфни нодуси припадајуће аксиле у време хируршке интервенције ипак долази до појаве удаљених метастаза у петогодишњем периоду праћења и често до смртог исхода. Циљ је анализа нивоа мамаглобина у туморском и перитуморском ткиву дојке, њихова корелација са другим маркерима који утичу на појаву рецидива тумора и метастазирање, што би издвојило групу пацијената са повећаним ризиком код којих би рана примена радикалне адјувантне терапије имала круцијални значај.

## **2.7 Методе истраживања**

Сваки пацијент пре укључивања у студију потписује детаљни информисани пристанак и попуњава одговарајући упитник. Студија је део пројекта Министарства на науку и образовање Републике Србије бр ИИИ 41010: "Биомаркери и биолошки активне супстанце у преклиничким и клиничким испитивањима пацијената са малигним туморима", са одобрењем Етичког одбора КЦ Крагујевац бр 01-4990 од 04.05.2012. године. Током операције која се рутински изводи у КЦ Крагујевац узоркује се део карциномског и део перитуморског ткива уз надзор патолога и подвргава одговарајућој патохистолошкој верификацији. Одмах по узимању узорака исти се смештају у танк са течним азотом (-196 °C), који се чува на ПМФ у Крагујевцу.

Молекуларно-биолошке анализе се врше на узорцима туморског и перитуморског ткива најмање 64 оперисана пацијента. У току припреме узорака се врши хомогенизација ткива, изолација информационе РНК, изолација протеина а потом се приступа анализи специфичних маркера.

Протеинска експресија:

- 1) Одређивање концентрације мамаглобина колориметријском методом (ELISA).
- 2) Одређивање експресије Ki-67 у испитиваним узорцима-имунохистохемијском методом.

3) Одређивање експресије E-cadherin-a у испитиваним узорцима-имунохистохемијском методом.

### **2.7.1 Врста студије**

Рад представља клиничку опсервациону студију (кохортна) уз експерименталну студију на материјалу хуманог порекла *in vitro*.

### **2.7.2 Популација која се истражује**

У испитивање су укључени пацијенти са дијагностикованим примарним карциномом дојке лечени у КЦ Крагујевац, у периоду праћења од 5 година (2011-2016).

### **2.7.3 Узорковање**

У студији учествују особе женског пола. Све пацијенткиње претходно пролазе Онколошки конзилијум КЦ у Крагујевцу, након чега се приступа одговарајућој хируршкој интервенцији. Нису укључене пацијенткиње код којих је преоперативно спроведена неoadјувантна терапија. Испитивање ни у ком случају не интерферира са лечењем какво се иначе рутински спроводи у КЦ Крагујевац према важећим принципима добре клиничке праксе.

### **2.7.4 Варијабле које се мере у студији:**

Независне варијабле су ниво мамаглобина у туморском и перитуморском ткиву (лабораторисјке анализе) као и ниво других познатих маркера метастазирања (лабораторисјке анализе), зависна варијабла је ниво агресивности болести у смислу настанка рецидива и метастаза (клиничко праћење, ЦТ, НМР, хируршка интервенција,...), док су збуњујуће варијабле коморбидитети, демографски подаци ( године старости, навике, социо-епидемиолошки фактори...)

### **2.7.5 Снага студије и величина узорка**

Величина узорка је израчуната на основу података о проценту пацијената са немалигним болестима дојке који су позитивни за присуство информационе РНК за мамаглобин и проценту пацијената са карциномом дојке где је присутна информациона РНК за мамаглобин, а ови подаци су добијени из студије O'Brien и сарадника (O'Brien N, Maguire TM, O'Donovan N, Lynch N, Hill AD, McDermott E, O'Higgins N, Duffy MJ. Mammaglobin: a promising marker for breast cancer. Clin Chem. 2012; 48(8): 1362-4.). За

израчунавање величине узорка узето је да ће се користити  $\chi^2$  тест, да је жељена снага студије  $1-\beta= 0,95$  (95%), вероватноћа грешке I типа  $\alpha=0.05$ . Применом комерцијалног програма G Power v.3.0.10 утврдили смо да је за дате критеријуме неопходан узорак од најмање 64 пацијента.

### **2.7.6 Статистичка анализа**

Подаци ће бити анализирани коришћењем статистичког програма SPSS верзија 13. Пре статистичке обраде података, прво ће се испитати правилност расподеле добијених вредности (величина узорка одређује који ћемо тест користити за ту проверу). Уколико вредности буду имале правилну расподелу користиће се параметарски Student's t тест, док ће се неправилна расподела поредити коришћењем непараметарског Mann-Whitney теста. Резултати експеримента ће се изражавати као вредност  $\pm$  стандардна грешка (SE). Статистички значајна разлика у добијеним вредностима између група износи  $p<0,05$ , док је статистички веома значајна разлика када је  $p<0,01$ .

## **2.8 Очекивани резултати докторске дисертације**

Одређивање нивоа мамаглобина у туморском и перитуморском ткиву у корелацији са осталим анализираним маркерима метастазирања код пацијената са карциномом дојке требало би да изврло хетерогене групе издвоји оне пацијенте коју су под повећаним ризиком од појаве рецидива болести и метастаза, што би за последицу имало одлуку о раном радикалном адјувантном третману у циљу превенције развоја системске болести.

## **2.9 Оквирни садржај дисертације**

Упркос напретку који је постигнут у лечењу карцинома дојке очигледан је висок морталитет и морбидитет када је у питању ова болест, тако да је неопходно даље изучавање на овом пољу у циљу проналажења нових маркера као предиктора агресивности болести. Хумани мамаглобин се сматра једним од најзначајнијих маркера хематогене дисеманације карцинома дојке. У испитивање су укључени пацијенти са дијагностикованим примарним карциномом дојке лечени у КЦ Крагујевац, у периоду праћења од 5 година (2011-2016). Током хируршке интервенције се узоркује туморско и перитуморско ткиво дојке и подвргава патохистолошкој обради. Потом се врше лабораторијске анализе ради утврђивања нивоа мамаглобина у туморском и перитуморском ткиву, а затим се добијени резултати упоређују са анализом маркера који су у корелацији са појавом удаљених метастаза и рецидива болести. Ниво мамаглобина у туморском и перитуморском ткиву код пацијета са карциномом дојке



корелира са степеном агресивности болести. Однос нивоа мамаглобина у туморском и перитуморском ткиву у корелацији са осталим маркерима канцерогенезе има улогу у исходу лечења и прогнози болести код пацијета са карциномом дојке. Ниво мамаглобина у туморском и перитуморском ткиву код пацијета са карциномом дојке корелира са одређеним патохистолошким типовима. Ниво мамаглобина у туморском и перитуморском ткиву чак и код пацијената код којих је постигнута R0 хируршка ресекција може указати на постојање системске болести. Ниво мамаглобина у туморском и перитуморском ткиву у корелацији са осталим анализираним маркерима може да издвоји пацијенте под повећаним ризиком од појаве системске болести, што би за последицу имало спровођење раног радикалног адјувантног третмана.

### 3. Предлог ментора

Комисија за ментора ове докторске дисертације предлаже **проф. др Драгана Чановића**, ванредног професора Факултета медицинских наука Универзитета у Крагујевцу за ужу научну област Хирургија. Проф. др Драган Чановић испуњава услове за ментора докторских дисертација, у складу са стандардом 9. за акредитацију студијских програма докторских академских студија на високошколским установама.

#### 1.1 Компетентност ментора

**Проф. др Драган Чановић** поседује стручне и научне компетенције које су комплементарне са предметом истраживања и планираном методологијом, као и искуство и остварене резултате у развоју научно наставног подмлатка.

Радови предложеног ментора који су у вези са темом докторске дисертације:

1. S.Ninkovic, G.Azanjac, M.Knezevic, D.Radovanovic, **D.Canovic**, J.Nedovic and S.Mitrovic. Lobular breast cancer in male a previous history of irradiation due to Hodgkins disease. Breast Care 2012; 7(4):315-318, doi: 10.1159/000341391
2. T. Soldatović, P. Čanović, **D. Čanović**, Ž. Bugarčić. Comperative reactions of L-methionine and 5'-GMP towards platinum (II) complexes. Med Chem 2005; 6: 547-61
3. Pesovic JP, Milosevic BZ, **Canovic DS**, Cvetkovic AM, Milosavljevic MZ, Jevdjic JD, Pavlovic MD, Petrovic MD. Cancer of ectopic parathyroid gland presentation of the disease with a case report. Int J Clin Exp Med. 2013;6(3):227-30

#### **4. Научна област дисертације**

Медицина. Ужа област Хирургија.

#### **5. Научна област чланова комисије**

1. Проф. др Јасна Јевђић, ванредни професор Факултета медицинских наука Универзитета у Крагујевцу за ужу научну област Хирургија
2. Доц. др Срђан Нинковић, доцент Факултета медицинских наука Универзитета у Крагујевцу за ужу научну област Хирургија
3. Доц. др Владан Живаљевић, доцент Медицинског факултета Универзитета у Београду за ужу научну област Хирургија
4. Проф. др Снежана Јанчић, редовни професор Факултета медицинских наука Универзитета у Крагујевцу за ужу научну област Патолошка анатомија
5. Доц. др Гордана Радосављевић, доцент Факултета медицинских наука Универзитета у Крагујевцу за ужу научну област Микробиологија и имунологија

## **Закључак и предлог комисије**

1. На основу досадашњег успеха на докторским студијама и публикованих радова, **асист. др Бојан З. Милошевић** испуњава све услове за одобрење теме и израду докторске дисертације.

2. Предложена тема је научно оправдана, дизајн истраживања је прецизно постављен и дефинисан, методологија је јасна. Ради се о оригиналном научном делу, где се испитује значај нивоа мамаглобина у туморском и перитуморском ткиву код пацијената са карциномом дојке као прогностичког фактора у процени агресивности болести.

3. Комисија сматра да ће предложена докторска теза **асист. др Бојана З. Милошевића** бити од великог научног и практичног значаја јер има за циљ да из врло хетерогене групе издвоји оне пацијенте коју су под повећаним ризиком од појаве рецидива болести и метастаза, што би за последицу имало одлуку о раном радикалном адјувантном третману у циљу превенције развоја системске болести.

4. Комисија предлаже Наставно научно већу Факултета медицинских наука Универзитета у Крагујевцу да прихвати пријаву теме докторске дисертације кандидата **асист. др Бојана З. Милошевића** под називом „ **Експресија мамаглобина у ткиву као предиктора агресивности тумора дојке** ” и одобри њену израду.

У Крагујевцу

27.06.2016.

## ЧЛАНОВИ КОМИСИЈЕ

1. Проф. др Јасна Јевђић, ванредни професор Факултета медицинских наука Универзитета у Крагујевцу за ужу научну област Хирургија, председник

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

---
3. Доц. др Владан Живаљевић, доцент Медицинског факултета Универзитета у Београду за ужу научну област Хирургија, члан

---
4. Проф. др Снежана Јанчић, редовни професор Факултета медицинских наука Универзитета у Крагујевцу за ужу научну област Патолошка анатомија, члан

---
5. Доц. др Гордана Радосављевић, доцент Факултета медицинских наука Универзитета у Крагујевцу за ужу научну област Микробиологија и имунологија, члан

---