

РЕЦЕНЗИЈА

**НА ДОКТОРСКА ДИСЕРТАЦИЈА СО НАСЛОВ „НЕЗАВИСНИ
ПРОГНОСТИЧКИ И ПРЕДИКТИВНИ ФАКТОРИ КАЈ РАН СТАДИУМ
ЛУМИНАЛ А И ЛУМИНАЛ Б КАРЦИНОМ НА ДОЈКА“ ПРИЈАВЕНА НА
ФАКУЛТЕТ ЗА МЕДИЦИНСКИ НАУКИ, УНИВЕРЗИТЕТ
„ГОЦЕ ДЕЛЧЕВ“ – ШТИП**

Со Одлука бр. 0206-667/4 донесена на 46. седница на Наставно-научниот совет на докторски студии на Кампус 3 – Факултет за медицински науки, Универзитет „Гоце Делчев“ во Штип од 23.11.2021 година, формирана е Комисија за оценка и одбрана на докторската дисертација со наслов „Независни прогностички и предиктивни фактори кај ран стадиум луминал А и луминал Б карцином на дојка“ пријавена и изработена од кандидатката м-р д-р Марија Караколевска-Илова, во состав:

- проф. д-р Лилјана Костовска-Манева - претседател
- проф. д-р Милка Здравковска - член, интерен ментор
- проф. д-р Гордана Петрушевска - член, екстерен ментор
- проф. д-р Андреа Арсовски - член
- проф. д-р Антонио Глигоријевски - член.

Комисијата во наведениот состав го разгледа доставениот материјал и го поднесува следниов

ИЗВЕШТАЈ

Докторската дисертација со наслов „Независни прогностички и предиктивни фактори кај ран стадиум луминал А и луминал Б карцином на дојка“ од кандидатката м-р д-р Марија Караколевска-Илова претставува самостоен оригинален научноистражувачки труд, изработен на 182 страници, со фронт и проред според пропозициите за изработка на докторски труд, согласно со Правилникот за трет циклус студии на УГД. Во дисертацијата, во поглавјето *Резултати*, се презентирани вкупно 38 табели и 60 графикони. Трудот ги содржи следниве поглавја: Резиме на македонски и на англиски јазик, Вовед, Мотив, Цели на истражувањето, Материјал и методи на работа, Резултати, Дискусија, Заклучоци и Литература. Како користена литература, кандидатката цитира 231 референци, од кои најголемиот број се од понов датум.

Во поглавјето *Вовед* кандидатката дава осврт на инциденцата и морталитетот од карцином на дојка како најчест тип на карцином кај женската популација и најчеста причина за смрт од малигноми. За да се одреди соодветен локален и системски третман се нагласува потребата од точно дефинирање на клиничкиот и патолошкиот стадиум на болеста. Во одредувањето на клиничкиот стадиум на болеста се користи „Клиничката прогностичка скала“ на која се надоврзува „Патолошката прогностичка скала“ која ги вклучува биолошките карактеристики на карциномот на дојка, односно експресија на естрогенскиот рецептор (ЕР), експресија на прогестеронскиот рецептор (ПР), експресија на епидермалниот фактор на раст 2 (ХЕР-2/неу), пролиферативниот индекс Ки-67 и канцер супресорскиот генски продукт р53. Врз основа на биолошките карактеристики карциномот на дојка може да се подели во пет биолошки типа кои покажаа добра корелација со молекуларните типови изведени преку употребата на генетското пролифирање на карциномот на дојка. Предмет на студијата беа луминалните биолошки типови дефинирани како: 1. Луминал А (ЕР-позитивен, ПР-позитивен/негативен, ХЕР-2/неу негативен, Ки-67 < 14%); 2. Луминал Б / ХЕР-2/неу негативен (ЕР-позитивен, ПР-позитивен/негативен ХЕР-2/неу негативен, Ки-67 ≥ 14%) во нивниот ран стадиум. Важноста во одредувањето на соодветниот биолошки тип на карцином на дојка се согледа во фактот што секој од биолошките типови на карцином на

дојка се карактеризира со своја епидемиологија, географски карактеристики, прогностички и предиктивни маркери, тек на болеста и соодветен третман, начин на метастазирање и појава на локо-регионален рецидив како и исход на заболувањето. Понатаму во воведот кандидатката дава осврт на луминалните биолошки типови, односно ја претставува морфолошката и генетската разлика на двата суптипа. Се наведува дистинкцијата помеѓу луминал А и луминал Б типот којашто во студијата е изведена врз основа на препораката на Интернационалниот експертски концензус „Св. Гален“ за „Примарна терапија на ран карцином на дојка 2013 год.“ според која експресијата на пролиферативниот индекс Ки-67 претставува дистинкција помеѓу двата луминални типа, назначувајќи ја просечната вредност за Ки-67 < 14% за луминал А. Понатаму се елаборира влијанието на стероидните хормони (естроген и прогестерон) во развојот на карциномот на дојка претставувајќи некои од теориите базирани на канцерогеното влијание на естрогените или нивните метаболити на катехоли во разни ткива, вклучувајќи ги бубрезите, црниот дроб, утерусот и млечните жлезди, наоди кои беа потврдени низ студиите спроведени на анимални модели. Исто така, преку опис на структурата на ЕР и ПР се опишува и функцијата на хормонските рецептори која се доведува во корелација со развојот на карцином на дојка. Хормонски зависните карциноми на дојка може да се поделат во неколку групи во однос на експресијата на хормонските рецептори: ЕР-позитивен/ПР-позитивен тип, ЕР-позитивен/ПР-негативен тип и ЕР-негативен/ПР-позитивен тип. Во воведот се претставува патеката на експресијата на ПР кај ЕР-позитивните карциноми и значењето на нејзиниот интегритет за експресијата на ПР. Се дава осврт на епидемиолошките и клиничките карактеристики на карциномот на дојка со различна експресија на хормонските рецептори. Понатаму се дава осврт на ЕР и ПР и луминалните биолошки типови. Имено, се укажува на прогнозата на карциномот на дојка која зависи од повеќе фактори: демографски карактеристики, клинички карактеристики (големина на тумор, зафатеност на аксиларни лимфни јазли, присуство на далечни метастази, лимфо-васкуларна инвазија) и биолошки карактеристики (пролиферативен индекс, степен на диференцијација на малигната клетка, експресија на ЕР и ПР, експресија на ХЕР2/неу). ЕР и ПР се прогностички фактори, но истите ја губат својата прогностичка вредност по долг период на следење. Посебно се потенцира поделбата на луминалните типови на карцином на дојка во однос прогнозата според експресијата на ЕР, ПР, Ки-67, како и статусот на лимфните јазли, според препораките на концензусот од „Св.Гален“, Европското онколошко друштво, Американското онколошко друштво и Националната мрежа за карциноми. Постојат поголем број на докажани молекуларни и патолошки маркери значајни за прогнозата на карциномот на дојка, меѓутоа сè уште постојат одредени недостатоци во однос на предикцијата на третманот и на прогнозата. Ова главно е резултат на не-линеарната поврзаност помеѓу маркерите и исходот на болеста, што претставува поттик за клиничарите за точно предвидување на прогнозата базирано на овие маркери. Затоа потребата за точни статистички податоци во овој контекст се повеќе од потребни.

Во целиот *Вовед* кандидатката дава јасна хронологија на евалуацијата на ЕР, ПР и Ки-67 како изолирани прогностички и предиктивни маркери за луминалните биолошки типови, изнесена преку поголем број на ретроспективни и проспективни студии. Понатаму се прикажува влијанието на клиничките карактеристики (туморска големина и инволвираност на аксиларните лимфни јазли) во корелација со биолошките карактеристики (експресија на ЕР, ПР и Ки-67) за преживувањето кај луминалните типови на карцином на дојка. Понатаму начинот и потенцијалот за метастазирање, пределекционото место, појава на локорегионален рецидив, како и ПББ и ЦП, се изнесени во ставови засновани на повеќе студии кои го изнесуваат влијанието на ЕР, ПР и Ки-67 како фактори за развој на метастатска болест на луминалните типови. Пребарувајќи ја литературата е направена компарација на студиите за целокупното преживување и локалната контрола на болеста според молекуларните/биолошките типови на карцином на дојка класифицирани според концензусот од „Св. Гален“ – 2015 год.

Хетерогеноста на карциномот на дојка најдобро се одредува преку генетското профилирање, меѓутоа ваквото одредување во секојдневната пракса секогаш не е апликативно од технички и финансиски фактори, при што се наметнува потребата од

овозможување на друга еквивалентна класификација. Молекуларните суптипови се покажаа дека адекватно кореспондираат со клиничката карактеризација реализирана на основа на хормонскиот (ЕР,ПР) и ХЕР2/неу статусот, како и пролиферативните маркери (Ки-67) и хистолошкиот градус (G). Оттука произлегува *Мотивот* за спроведување на истражување кое ќе ги вклучи пациентките со карцином на дојка во РС Македонија, класифицирани во петте биолошки групи со користење на имунохистохемиска (ИХХ) обработка на препарат од карцином на дојка и одредувањето на независните прогностички и предиктивни маркери, а со тоа и одредувањето на целокупното преживување (ЦП) и преживување без болест (ПББ), посебно за луминалните субтипови.

Целите кои се поставени за истражување и изработка на докторската дисертација се јасно дефинирани:

1. Да се покаже дистрибуцијата на биолошките типови на карцином на дојка кај пациентките во РС Македонија и застапеноста на луминалните типови;

2. Одредување на независните прогностички фактори за ПББ и ЦП кај луминалните молекуларни типови.

Со оглед на фактот дека во РС Македонија нема студија, а и во светски рамки постојат само неколку, да се покаже:

3. Дали експресијата на ПР може да се смета како самостоен предиктивен фактор кај супгрупите луминална А и тоа: ЕР-позитивен / ПР-позитивен, ЕР-негативен / ПР-позитивен, ЕР-позитивен / ПР-негативен со негативни лимфни јазли и Ки-67 < 14% и луминална Б и тоа: ЕР-позитивен / ПР-позитивен, ЕР-негативен / ПР-позитивен, ЕР-позитивен / ПР-негативен, ХЕР2/неу негативна, со негативни лимфни јазли и Ки-67 \geq 14%;

4. Дали експресијата на ПР може да се смета како самостоен предиктивен фактор кај супгрупите луминална А и тоа: ЕР-позитивен / ПР-позитивен, ЕР-негативен / ПР-позитивен, ЕР-позитивен / ПР-негативен со позитивни лимфни јазли и Ки-67 < 14% и луминална Б и тоа: ЕР-позитивен / ПР-позитивен, ЕР-негативен / ПР-позитивен, ЕР-позитивен / ПР-негативен, ХЕР2/неу негативна, со позитивни лимфни јазли и Ки-67 \geq 14%;

5. Дали пролиферативниот индекс Ки-67 може да се смета како самостоен предиктивен фактор кај субгрупите луминална А и тоа: ЕР-позитивен / ПР-позитивен, ЕР-негативен / ПР-позитивен, ЕР-позитивен / ПР-негативен со негативни лимфни јазли и Ки-67 < 14% и луминална Б и тоа: ЕР-позитивен / ПР-позитивен, ЕР-негативен / ПР-позитивен, ЕР-позитивен / ПР-негативен, ХЕР2/неу негативна, со негативни лимфни јазли и Ки-67 \geq 14%;

6. Дали пролиферативниот индекс Ки-67 може да се смета како самостоен предиктивен фактор кај супгрупите луминална А и тоа: ЕР-позитивен / ПР-позитивен, ЕР-негативен / ПР-позитивен, ЕР-позитивен / ПР-негативен со позитивни лимфни јазли и Ки-67 < 14% и луминална Б и тоа: ЕР-позитивен / ПР-позитивен, ЕР-негативен / ПР-позитивен, ЕР-позитивен / ПР-негативен, ХЕР2/неу негативна, со позитивни лимфни јазли и Ки-67 \geq 14%;

7. Дали позитивните аксиларни лимфни јазли (1-3) кај супгрупите на луминал тип се независни предиктивни фактори;

8. Дали раниот стадиум на луминалните типови е предиктивен во одредувањето на типот на хемо/хормонотерпијата

9. Да се одреди предиктивната вредност на ЕР, ПР, Ки-67 во одредувањето на типот на хемо/хормонотерпијата кај карцином на дојка со добри биолошки карактеристики и негативни/позитивни лимфни јазли во ран стадиум;

10. Период на преживување без болест (ПББ) кај луминалните биолошки групи, без разлика на големина на тумор и зафатеност на лимфните јазли до декември 2018 год.;

11. Целокупно преживување (ЦП) до декември 2015 год. и декември 2018 год. Во поглавјето *Материјал и методи на работа* е даден дизајнот на студијата и е направен опис на пациентите кои се вклучени во истражувањето. Студијата е клиничка ретроспективно-проспективна („follow up study“), спроведена во периодот од 1. 2010 до 12. 2013 година, со следење на параметрите за пациентите до 12. 2018 год. Анализирани се вкупно 366 пациенти со дијагностициран, опериран, патохистолошки докажан карцином на

дојка кои беа од Приватната клиничка болница „Аџибадем Систина“ - Скопје, за кои беше извршена патохистолошка и имунохемиска обработка на препарат добиен од оперативен материјал од карцином на дојка. Користењето и обработката на податоците беше во согласност со Законот за заштита на личните податоци на РС Македонија.

Во ова поглавје се претставени критериумите за вклучување на пациентите во истражувањето (во однос на возрастна група, тип на оперативен зафат, адјувантна специфична онколошка терапија, стадиум на болеста). Се претставија критериумите за обработка на податоците од пациентите за целите на студијата. Се опишаа методите за ИХХ-та анализа на експресијата на ЕР, ПР и Ки-67 и е претставен начинот на изразување на нивната експресија. Врз основа на овие податоци пациентите се поделија во пет молекуларни биолошки типови на инвазивен карцином на дојка според Концезусот од „Св. Гален“ од 2013 година. Податоците за целите на студијата беа анализирани за луминален тип на карцином на дојка: луминал А (ЕР-позитивен, ПР-позитивен/негативен, ХЕР-2/неу негативен, Ки-67 < 14%) и луминал Б / ХЕР-2/неу негативен (ЕР-позитивен, ПР-позитивен/негативен ХЕР-2/неу негативен, Ки-67 ≥ 14%), за нивниот ран стадиум: T0, T1 – од 0.1 до 2см, T2- од 2.1 до 5см (T1a:0.1-0.5см, T1b:0.6-0.9см и T1c:1-2см) и T2 (2.1- 5см), N0, N1 (1-3 позитивни лимфни јазли). На крајот од ова поглавје е даден и статистичкиот метод, односно наведени се сите статистички тестови со кои е направена анализа на податоците од интерес за изработка на докторската дисертација.

Во поглавјето *Резултати* кандидатката сите добиени резултати од интерес ги прикажува прегледно и систематизирано во 38 табели и 60 графикони, со јасно интерпретирање на направените анализи. Во првиот дел од резултатите е прикажана дистрибуцијата на биолошките типови на карцином на дојка кај испитуваните пациенти во РС Македонија, претставувајќи го луминал Б типот за најдоминантен, при што процентуалната разлика во однос на застапеноста помеѓу луминал Б и останатите биолошки типови на дијагностициран карцином на дојка беше статистички сигнификантна за $p < 0.05$ (Difference test, $p = 0.0000$). Во вториот дел од резултатите е извршена анализа за луминал А и луминал Б генерално и за нивниот ран стадиум. Кај биолошкиот тип луминал А во најголем дел беше регистриран стадиум IA и IB (40.7%), потоа следуваа IIА и IIВ (35.2%). Разликата помеѓу пропорциите беше статистички незначајна за $p > 0.05$ (Difference test, $p = 0.5572$). Кај биолошкиот тип луминал Б во најголем дел се регистрираше стадиум IIА и IIВ - 49.5%, потоа следуваа со 33.2% IIIА, IIIВ и IIIС. Разликата помеѓу пропорциите беше статистички значајна за $p < 0.05$ (Difference test, $p = 0.0013$). Раниот стадиум на луминалните типови на карцином на дојка во вкупниот број на пациенти со дијагностициран карцином на дојка беше со застапеност од 49.7%. Понатаму е претставена застапеноста на пациенти со луминални биолошки типови на карцином на дојка според возраст, хистолошки тип, големина на тумор и состојба на лимфни јазли. Се регистрираше статистички сигнификантна поврзаност помеѓу раниот стадиум на луминал А и луминал Б и големината на туморот $p < 0.05$, односно кај пациентите со ран стадиум луминал А со 41.5% беше застапена големината на тумор од 1 до 2см / T1c, а кај пациентите со ран стадиум луминал Б со 55.6% беше застапена големината на тумор од 2.1 до 5 см / T2. Кај биолошкиот тип луминал А во ран стадиум во најголем процент се регистрираа негативни лимфни јазли со 70.7% - N0, а со 29.3% позитивни 1-3 лимфни јазли - N1. Разликата помеѓу процентите беше статистички значајна за $p < 0.05$, додека раниот луминал Б не се покажа предиктивен за статусот на аксиларните лимфни јазли. Понатаму беше анализирана застапеноста на пациентите со луминални типови на карцином на дојка според експресија на ЕР (%), при што раниот стадиум на луминалните типови не се покажа предиктивен за неговата експресија. Анализата на застапеноста на пациентите со луминални типови на карцином на дојка според експресија на ПР (%), само кај ран луминал Б се регистрираше статистички сигнификантна поврзаност помеѓу експресијата на ПР, при што со 72.2% беше застапена високо позитивна експресија на ПР (>10%), ниско позитивна експресија на ПР се регистрираше кај 6.3% и без експресија на ПР кај 21.4%. Понатаму беа анализирани податоците за застапеноста на разните модалитети на експресија на хормонските рецептори ЕР+ (>1%)/ПР+ (>1%); ЕР- (<1%)/ПР+ (>1%); ЕР+ (>1%)/ПР- (<1%), кај пациентите со луминал А и луминал Б и нивниот ран стадиум. Анализата на пролиферативниот индекс

Ки-67 кај пациентите со ран луминал Б покажа дека во 42.8% беше застапен со експресија од ≥ 14 -20%, субгрупата на пролиферација >20 -30% беше застапена со 34.1%, > 30 -40% со 15.1% и над 40% со 7.9%, при што не се покажа статистички сигнификантна поврзаност помеѓу модулите на експресија на пролиферативниот индекс Ки-67 и раниот стадиум на луминал Б за $p > 0.05$ (Pearson Chi-square: 7.55504, df=3, p=0.056161). Се регистрираше статистички сигнификантна асоцијација помеѓу стадиумите на луминал А и луминал Б и регистрацијата на типот на далечни метастази за $p < 0.05$. Далечни метастази во раниот стадиум на луминал А се регистрираа кај двајца (4.9%) пациенти (N=41), додека далечни метастази во раниот стадиум на луминал Б се регистрираа кај 18 (14.3%) пациенти (N=126). Локорегионален релапс во раниот стадиум на луминал Б се регистрираше кај 10 (7.9%) пациенти (N=126), а раниот стадиум на луминал А не пројави локорегионален релапс во испитуваниот период. Во однос на одредувањето на предикцијата на раниот стадиум на луминалните типови за спроведување на адјувантна терапија (хемотерапија/хормонотерапија) при што се утврди статистички сигнификантна асоцијација помеѓу стадиумот на луминал А и луминал Б и типот на протоколот на адјувантна хемотерапија за $p < 0.05$, но раниот стадиум на луминалните типови не се покажа предиктивен за типот на спроведена хормонотерапија. Во вториот дел од резултатите се анализираа ЦП и ПББ (рПББ и мПББ) во однос на испитуваните параметри (експресија на ЕР, ПР, Ки-67, туморска големина, статус на лимфни јазли), како и се направи евалуација на одредените суптипови во однос на експресијата на хормонските рецептори и состојбата на лимфните јазли и апликацијата на адјувантната терапија со цел одредување на нивната прогностичка и предиктивна улога како изолирани фактори. Во просек пациентите со докажан карцином на дојка во ран стадиум / луминал А имаа преживување од 104.3 месеци, со интервал на доверба 95% во ранг од 102.1 до 106.6 месеци, додека во просек пациентите во ран стадиум / луминал Б преживуваа 103.7 месеци, со интервал на доверба 95% во ранг од 101.3 до 106.1 месеци. Разликата во ЦП на пациентите со ран луминален тип во однос на клиничките карактеристики на туморот (големина на тумор и во однос на N0/N1) не се покажа статистички сигнификантна. Според Log Rank тестот (Mantel-Cox-Chi-square) $p = 0.00209$ разликата во целокупното преживување на пациентите со ран луминал А со ниска позитивна (1-10%) во однос на позитивна ($>10\%$) експресија на ЕР беше статистички сигнификантна, додека експресијата на ЕР за ЦП кај ран луминал Б не се покажа статистички сигнификантна, $p = 0.77524$. Степенот на експресија на ПР не се покажа предиктивен за ЦП за раниот стадиум на луминалните типови. Само модалитетот на експресија на хормонските рецептори, ЕР - позитивен ($>1\%$) / ПР - позитивен ($>1\%$) се покажа предиктивен за ЦП, но само за раниот стадиум на луминал Б. Разликата во целокупното преживување на пациенти со ран луминал Б во однос на супгрупи на степен на експресија на пролиферативен индекс Ки-67% беше статистички несигнификантна, $p = 0.37165$. Во однос на спроведената адјувантна хемотерапија, нејзиниот тип се покажа предиктивен за ЦП за ран стадиум на луминалните типови, во случаите каде што истата беше спроведена, $p = 0.00984$, потенцирајќи го понетоксичниот хемотераписки протокол за адекватна опција. Во однос на адјувантна хормонотерапија, само типот на истата беше предиктивен за ЦП кај ран стадиум на луминал А, $p = 0.00073$. Степенот на експресија на хормонските рецептори не се покажа предиктивен за ЦП на раниот стадиум на луминалните типови во однос на статусот на лимфните јазли. Степенот на експресија на хормонските рецептори не се покажа предиктивен за ЦП на раниот стадиум на луминалните типови во однос на типот на спроведена адјувантна хемотерапија и кај двата луминални типа ($p = 0.92127$, $p = 0.08648$, $p = 0.76347$, $p = 0.13764$), додека само позитивната експресија на хормонските рецептори беше предиктивна за типот на адјувантната хормонотерапија за ЦП кај раниот луминал Б, $p = 0.00015$. Просечното време на преживување без болест (до појава на далечна метастаза) на пациентите во раниот стадиум луминал Б изнесуваше 59.7 месеци, со интервал на доверба 95% во ранг од 49.1 до 70.4 месеци. Раниот стадиум на луминал Б се покажа предиктивен за рПББ, $p = 0.00338$. Се регистрираше статистички сигнификантна разлика помеѓу мПББ (до појава на далечна метастаза) и рПББ (до појава на локо-регионален рецидив) при модалитетот ЕР-позитивен ($>1\%$)/ПР-позитивен ($>1\%$), во однос на стадиумите на луминал Б за $p < 0.05$. Не се регистрираше статистички сигнификантна

разлика помеѓу време на преживување без болест кај пациентите со докажан карцином на дојка – луминал Б ран стадиум во однос на типот на спроведената хормонотерапија за $p > 0.05$, Chi-square = 2.563531. Со униваријантниот Cox Proportional модел се анализираше прогностичката и предиктивната улога на статистички значајните варијабли прикажани преку Kaplan – Meier криви за ЦП и ПББ.

Во поглавјето *Дискусија* кандидатката исцрпно ги образложува добиените резултати и ги споредува со податоци од достапната литература која е од интерес за истражувањето. Дел од добиените и презентирани резултати во студијата се совпаѓаат со резултатите на голем број на студии кои се работени со иста цел, додека дел од резултатите се спротивни на досегашните резултати и некои од нив преставуваат оригинални резултати.

По спроведувањето на истражувањето и по направените анализи, кандидатката ги дава следните *Заклучоци*:

- Во РС Македонија испитувањето покажа дека најчест биолошки тип на карцином на дојка е луминалниот тип и тоа луминал Б/ХЕР2/неу - негативниот тип (за дури 43.4% повеќе застапен од луминал А);
- Луминалните типови имаа тенденција за презентација во ран стадиум (луминал А / 75.9% и луминал Б / 63%);
- Раниот стадиум на луминалните типови на карцином на дојка во вкупниот број на пациенти со дијагностициран карцином на дојка беше со застапеност од 49.7%;
- Возраста и хистолошкиот тип на луминалните типови не се покажаа индикативни за развој на ран стадиум;
- Во однос на клиничките карактеристики (туморска големина и инволвираност на аскларни лимфни јазли) луминалните типови покажаа тенденција да се презентираат со мала туморска големина, односно со големина на тумор од 2.1 до 5 см (односно Т2 тумори);
- Раниот стадиум на луминалните типови имаше тенденција да се презентира со туморска големина над 1 см, при што луминал Б со поголема туморска големина т.е со Т2 (2.1-5см) во однос на луминал А / Т1ц (1-2 см), со што се потврди неговата биолошка различност во однос на луминал А и во ран стадиум;
- Меѓутоа, раниот стадиум на луминалните типови не покажа тенденција да ги инволвира аксиларните лимфни јазли – N1(1-3);
- Раниот стадиум на луминал А се покажа дека е предиктивен за неинволвираност на регионалните лимфни јазли во дури 2/3 од случаите (70.7%, N0)
- Меѓутоа, ниту за луминал А ниту за луминал Б се доби заклучок дека биолошкиот тип е предиктивен за бројот на инволвирани аксиларни лимфни јазли кај нивниот ран стадиум, доколку постои нивна зафатеност.

Во однос на експресијата на хормонските рецептори (ЕР, ПР) и пролиферативниот индекс (Ки-67) кај раниот стадиум на луминалните типови на карцином на дојка се доби следниов заклучок:

- ЕР: Раниот стадиум на луминалните типови не беше предиктивен за степенот на експресија на ЕР;
- ПР: Само раниот стадиум на луминал Б беше предиктивен за експресијата на ПР, при што истиот имаше поголема тенденција да биде со ниска или без експресија на ПР во однос на луминал А, со што се покажа неговата биолошка различност во однос на луминал А и во ран стадиум;
- Во однос на модалитетите на експресија и на двата хормонски рецептори, сите три модалитети беа застапени кај раниот стадиум на луминал Б при што во најголем дел од случаите (77%) со експресија на двата хормонски рецептори (ЕР-позитивен/ПР-позитивен), додека без експресија на ПР во 21.4% и без експресија на ЕР само кај два пациенти. Раниот стадиум на луминал Б се разликуваше од раниот стадиум на луминал А и во однос на модалитетите на експресија на хормонските рецептори, бидејќи раниот луминал А во 92.5% се презентираше со експресија на двата рецептора, а без експресија на ПР само кај три пациенти;
- Пролиферативниот индекс, Ки-67 кај раниот стадиум на луминалниот Б тип карцином на дојка не покажа тенденција да се експресира со одредена доминантна вредност, односно специфична супгрупа на експресија.

Во однос на спроведување на адјувантна хемотерапија и хормонотерапија кај раниот стадиум на луминалните типови се добија следниве заклучоци:

- Раниот стадиум на луминал А за одредена група на пациенти (39%) се покажа предиктивен за апликација на хемотерапија, како и раниот стадиум на луминал Б, но кај поголем број од пациентите (71%). Ова уште еднаш потврдува за биолошката различност на луминалните типови и во нивниот ран стадиум. Секако во одлуката за хемотерапија одлучувачка улога најверојатно имаа и клиничките карактеристики на луминал Б (односно туморската големина-T2);

- Карактеристично е тоа што и кај двата луминални типа во најголем дел беше спроведен понеинтензивен хемотераписки протокол (EC75), без воведување на таксани, но сепак во подолг режим од 6 циклуса дури и кај ран луминал А. раниот стадиум на луминалните типови се покажа предиктивен за типот на спроведената хемотерапија;

- Адјувантна хормонотерапија во ран стадиум на луминалните типови не беше аплицирана само кај 8.9% од пациентите;

- Раниот стадиум на луминалните типови не се покажа предиктивен за типот на адјувантна хормонотерапија иако клинички во најголем дел од пациентите беше ординиран тамоксифен.

При одредувањето на независните прогностички и предиктивни маркери кај ран стадиум на луминалните биолошки типови преку ЦП и ПББ се изведоа следниве заклучоци:

- Во испитуваниот 8-годишен период, кај луминалниот А биолошки тип не се покажа статистички значајна разликата во ЦП помеѓу неговиот ран и напреднат стадиум, што значи дека сепак биолошките фактори имаат влијание. Во просек пациентите со докажан карцином на дојка во ран стадиум / Луминал А имаа преживување од 104.3 месеци (односно над 8 години) – несаканиот настан се случи кај само два пациента;

- Во испитуваниот 8-годишен период, стадиумот кај луминал Б се покажа дека е со прогностичко значење за целокупното преживување. Во просек пациентите во ран стадиум / луминал Б преживуваа 103.7 месеци (6 месеци помалку од пациентите со ран луминал А). Иако со низок ризик за рецидив и метастазирање, сепак луминал А и луминал Б се различни биолошки типови и постои разлика и помеѓу нивниот ран стадиум во однос на ЦП;

- Од клиничките карактеристики ниту туморската големина ни статусот на аксиларните лимфни јазли се покажаа прогностички за ЦП кај раниот стадиум на луминалните биолошки типови на карцином на дојка;

- Експресијата на ER може да се смета за изолиран прогностички фактор за ЦП кај раниот стадиум на луминал А, при што високо позитивна експресија - >10% беше предиктивна за подолго ЦП отколку ниско позитивната експресија - 1-10%. Но, статусот на ER не беше прогностички за ЦП кај раниот луминал Б биолошки тип;

- Анализата на експресијата на PR како прогностички биомаркер кај раниот стадиум на луминалните типови не се покажа како изолиран биомаркер за ЦП, иако клинички беше евидентно дека степенот на неговата експресија е во корелација со должината на ЦП;

- Експресијата и на двата хормонски рецептори се покажа предиктивна за ЦП, но само за раниот стадиум на високо пролиферативниот луминален биолошки тип, луминал Б, без разлика на статусот на пролиферативниот индекс, Ки-67;

- Степенот на експресијата на PR кај раниот стадиум на ER – позитивен луминал Б карцином на дојка не беше асоциран со ЦП, односно кај високо пролиферативните ER позитивни луминални тумори влијанието на експресијата на PR треба да се разгледува во корелација со клиничките и другите биолошки карактеристики на туморот;

- Пролиферативниот индекс, Ки-67 поделен во субгрупи (15-20%, 21-30%, 31-40%, ≥41%) не беше асоциран со ЦП за раниот стадиум на луминал Б карцином на дојка, иако клинички најдобро преживување имаа пациентите со експресија на Ки-67 од 14-20%.

Во однос на спроведената адјувантна терапија кај раниот стадиум на Луминалните типови се дојде до следниов заклучок:

- Адјувантната хемотерапија кај раниот стадиум на луминал А не беше предиктивна за ЦП кај пациентите кај кои истата беше аплицирана, но типот на хемотераписки протокол беше со предиктивна важност. Понетоксичниот хемотераписки протокол (кој вклучува

антрациклини без таксани) во краток режим од 4 циклуса би требало да биде третман на избор;

- CMF протоколот кај ран луминал А не би требало повеќе да се смета како опција за адјувантен третман (5-годишно ЦП од само 50%);

- Хормонски позитивниот субтип на луминал А не се покажа предиктивен за спроведување на адјувантна хемотерапија, ниту пак за типот на истата, така да дека експресијата на хормонските рецептори не е доволна за истите да се сметаат изолиран биомаркер за ЦП кај раниот стадиум на луминал А, а со тоа и да имаат предиктивна улога за спроведување на хемотерапија;

- Адјувантната хемотерапија кај раниот стадиум на луминал Б се покажа предиктивна за ЦП кај пациентите кај кои истата беше аплицирана (28.6%). Типот на хемотераписки протокол како и неговата должина беа предиктивни за ЦП кај високо пролиферативниот луминален тип и за неговиот ран стадиум, при што понетоксичен хемотераписки протокол кој вклучува антрациклини без таксани, но во подолг режим (6 циклуса) би требало да биде третман на избор;

- Експресијата на хормонските рецептори не се покажа предиктивна за типот на хемотераписки протокол за раниот стадиум на луминал Б биолошкиот тип, при што експресијата на хормонските рецептори и типот на хемотераписки протокол не влијаеше на ЦП. Експресијата на ПР не може да се смета предиктивна за типот на адјувантен хемотераписки протокол кај ран стадиум на ЕР - позитивна болест кај високо пролиферативен луминален карцином на дојка, односно ПР не беше изолиран предиктивен фактор;

- Типот на спроведената адјувантната ендокрина терапија беше предиктивен за ЦП кај ран луминал А, при што АИ може да се изостави, а терапија на избор би била тамоксифен или тамоксифен со ЛХРХ агонист кај пременопаузни пациентки;

- Клинички евидентната разлика помеѓу ЦП при различен протокол на хормонотерапија кај раниот стадиум на луминал Б не беше статистички сигнификантна, што значи кај ран стадиум на високопролиферативен луминален карцином на дојка спроведениот тип на адјувантна хормонотерапија не е предиктивен за ЦП;

- Експресијата на хормонските рецептори на луминал А тип карцином на дојка во ран стадиум не беше изолиран предиктивен фактор за спроведената хормонска терапија, во однос на тоа и прогностички за ЦП;

- Експресијата на хормонските рецептори на луминал Б тип карцином на дојка во ран стадиум беше и со предиктивно и прогностичко значење, односно тамоксифенот се покажа како лек на избор за ЦП кај хормонски позитивната болест кај високо пролиферативен луминален тип во ран стадиум;

- Експресијата на ПР не се покажа со предиктивна важност кај ЕР-позитивен високо пролиферативен луминален тип карцином на дојка во неговиот ран стадиум за хормонска терапија, а со тоа и прогностички за ЦП;

- Додавањето на хемотерапијата кон хормонотерапијата не се покажа предиктивна за ЦП кај раниот стадиум на луминалните биолошки типови, што значи дури и кај одредена група на пациенти кај ран стадиум на високо пролиферативен луминален тип (луминал Б) истата може да биде изоставена, што пак го потенцира значењето на експресијата на хормонските рецептори;

- Експресијата на двата хормонски рецептори се покажа дека е прогностички фактор за ЦП кај ран стадиум на луминален суптип (луминал А и луминал Б) на карцином на дојка кога постои инволвираност на аксиларните лимфни јазли;

- Експресијата на ЕР кај високо пролиферативниот луминален тип во ран стадиум без експресија на ПР ја потврди својата предиктивна важност за ЦП дури и при инволвираност на аксиларните лимфни јазли, односно ПР не се издвои како независен прогностички фактор кај нодус позитивна болест;

- Експресијата на хормонските рецептори се покажа како изолиран прогностички фактор како за мПББ така и за рПББ кај ран стадиум на високо пролиферативниот луминален тип (луминал Б);

- Експресијата на ПР не се докажа како изолиран прогностички фактор за мПББ кај

високо пролиферативниот ЕР - позитивен луминал тип карцином на дојка во ран стадиум;

- Кај раниот стадиум на ЕР-позитивен луминал Б карцином на дојка, типот на спроведената адјувантна терапија (хемотерапија / хормонотерапија) не се покажа предиктивен за појавата на метастатска болест;

- Униваријантниот Cox Proportional модел за време на целокупно преживување на пациентите со ран луминал А и Б карцином на дојка не покажа дека раниот стадиум кај луминалните типови го редуцира морталитетот, што укажува на влијанието на биолошките карактеристики врз ЦП и потребата за точното утврдување на независните предиктивни и прогностички биолошки фактори со примена на ИХХ на патолошки примерок.

- Униваријантниот Cox Proportional модел покажа дека позитивната експресија на ЕР кај ран луминал А е изолиран прогностички фактор за ЦП, така што дури и ниско позитивната експресија го редуцираше настанот за 90% секој месец, независно од големината на туморот, состојбата на лимфните јазли, возраста на пациентите, додека ПР не ја покажа својата протективна функција;

- Униваријантниот Cox Proportional модел не ги потврди биолошките маркери (ЕР, ПР и Ки-67) како независни прогностички маркери за раниот луминал Б карцином на дојка.

Како користена литература, м-р д-р Марија Караколевска-Илова цитира 231 референци од кои најголемиот број се од понов датум, што говори за актуелноста на истражуваната проблематика.

Научен придонес на докторската дисертација

Луминалните биолошки типови на карцином на дојка (луминал А и луминал) иако во ран стадиум, што значи добра прогноза и побавен тек на болеста, се биолошки различни во повеќе аспекти, тргнувајќи од ЦП кое за ран луминал А е 8 години, односно за 6 месеци подолго од ран луминал Б.

Ова треба да се има предвид при планирањето на активното следење на пациентите кај двата луминални типа одделно по завршен онколошки третман. Ова произлегува од таму што кај раниот луминален А карцином на дојка не се појави локорегионален рецидив, а метастатска болест се разви само кај 2 пациенти. Ваквото рационално планирање на начинот на следење на пациентите е и со економско значење.

Резултатите добиени за експресијата на хормонските рецептори преку ИХХ анализа на препарат од карцином на дојка, може да бидат релевантни за класифицирање на карциномот на дојка во луминален биолошки тип, со цел одлука за типот на терапијата, посебно за типот на адјувантната хемотерапија.

Експресијата на ПР не се покажа изолиран прогностички фактор ни кај ран луминал А ниту за високопролиферативниот луминал Б. Затоа, кога има експресија на ЕР е доволен прогностички и предиктивен фактор, дури и при зафатеност на аксиларните лимфни јазли. Одлуката за ЦП, ПББ и тип на хемотерапија и хормонотерапија кај раните луминални типови не може да се разгледува само користејќи ја експресијата на ПР.

Оваа студија всушност претставува поттик за спроведување на проспективни студии кои подетално ќе го евалуираат степенот на експресија на хормонските рецептори и Ки-67 во точно прецизирани групи на пациенти со Луминал тип, но во ран стадиум и тоа користејќи ја ИХХ-та анализа.

Исполнетост на законските услови за одбрана на докторатот

М-р д-р Марија Караколевска-Илова во периодот 2017-2021 година има објавено како автор и коавтор осум научни труда во реномирани списанија со фактор на влијание (impact factor) и во списанија со меѓународен уредувачки одбор.

ЗАКЛУЧОК И ПРЕДЛОГ

Комисијата за оценка и одбрана ја разгледа докторската дисертација со наслов „Независни прогностички и предиктивни фактори кај ран стадиум луминал А и луминал Б карцином на дојка“ од кандидатката м-р д-р Марија Караколевска-Илова и донесе заклучок дека истата претставува самостојна научна работа со оригинални и значајни резултати. Студијата врз основа на содржината, обемот и квалитетот на научната работа ги исполнува сите условите за изработка на докторска дисертација.

Врз основа на изложеното, Комисијата има чест и задоволство да му предложи на Наставно-научниот совет на докторски студии на Кампус 3 да ја прифати позитивната рецензија на докторската дисертација со наслов „Независни прогностички и предиктивни фактори кај ран стадиум луминал А и луминал Б карцином на дојка“ од кандидатката м-р д-р Марија Караколевска-Илова и да му одобри јавна одбрана на истата.

РЕЦЕНЗЕНТСКА КОМИСИЈА

Проф. д-р Лилјана Костовска-Манева – претседател, с.р.
Проф. д-р Милка Здравковска - член, интерен ментор, с.р.
Проф. д-р Гордана Петрушевска - член, екстерен ментор, с.р.
Проф. д-р Андреа Арсовски – член, с.р.
Проф. д-р Антонио Глигоријевски – член, с.р.