

**NASTAVNO NAUČNOM VEĆU MEDICINSKOG FAKULTETA
UNIVERZITETA U BEOGRADU**

Na sednici Naučnog veća Medicinskog fakulteta u Beogradu, održanoj dana 11.03.2022. godine, broj 11/IV-3/3-HH imenovana je komisija za ocenu završene doktorske disertacije pod naslovom:

„Procena prognostičkog potencijala molekularnih i kliničko-patoloških karakteristika lokalnog i lokalno odmaklog karcinoma debelog creva u predikciji ranog relapsa i ishoda pacijenata lečenih hemioterapijom“

kandidata dr Nede Nikolić, zaposlene u Institutu za Onkologiju i Radiologiju Srbije u Beogradu. Mentor je Prof. dr Goran Janković, komentor je N.Sav.dr Davorin Radosavljević.

Komisija za ocenu završene doktorske disertacije imenovana je u sastavu:

1. Doc. dr Srđan Nikolić, docent Medicinskog fakulteta u Beogradu
2. N. Sav. dr Radmila Janković, IORS
3. Prof. dr Ivan Nikolić, profesor Medicinskog fakulteta u Novom Sadu

Na osnovu analize priložene doktorske disertacije, komisija za ocenu završene doktorske disertacije jednoglasno podnosi Naučnom veću Medicinskog fakulteta sledeći

IZVEŠTAJ

A) Prikaz sadržaja doktorke disertacije

Doktorska disertacija dr Nede Nikolić napisana je na ukupno 75 strana i podeljena je na sledeća poglavlja: uvod, ciljevi rada, materijal i metode, rezultati, diskusija, zaključci i literatura. U disertaciji se nalazi ukupno 38 tabela, dvadeset i jedan grafikon i četiri slike.

Doktorska disertacija sadrži sažetak na srpskom i engleskom jeziku, biografiju kandidata, podatke o komisiji i spisak skraćenica korišćenih u tekstu.

U **uvodu** je definisano epidemiologija i karcinogeneza karcinoma debelog creva, kao i rizik za oboljevanje, prezentacija bolesti i standardne dijagnostičke procedure. Navedena je klasifikacija debelog creva kao i preživljavanje pacijenata, u zavisnosti od stadijuma bolesti. Takođe je prikazan detaljan osvrt na tretman lokalnog i lokalno odmaklog karcinoma debelog creva sa detaljnim opisom istorijata primene adjuvantne hemioterapije. Opisana je prognoza bolesti i faktori rizika koji utiču na preživljavanje. Opisani su molekularni markeri: TGF β 1, okcludin i β -catenin, njihova uloga u ćeliji i dosadašnja saznanja u pronostičkom potencijalu kod lokalnih stadijuma karcinoma debelog creva.

Ciljevi rada su precizno definisani. Sastoje se od ispitivanja povezanost nivoa ekspresije gena TGF β 1, CTNNB1 i OCLN, patohistoloških karakteristika tumora, demografskih i kliničkih karakteristika pacijenata sa pojavom ranog relapsa kao i ishoda bolesti: relapsa, vremena bez znakova bolesti, ukupnog, kancer-specifičnog i preživljavanja nakon relapsa bolesti. Takođe kao cilj rada naveden je i ispitivanje uticaja ranog relapsa na ukupno, kancer-specifično i preživljavanje nakon relapsa bolesti, kao i utvrđivanje stope relapsa, preživljavanje bez znakova bolesti, ukupno preživljavanje, preživljavanja nakon relapsa i stope smrtnosti u populaciji pacijenata

U poglavlju **materijal i metode** je navedeno da se radi o prospektivnoj studiji koja je sprovedena u Institutu za Onkologiju i Radiologiju Srbije. Detaljno je opisana obuhvaćena kohorta pacijenata, opisane su karakteristike tumora, vrsta tretmana i princip praćenja pacijenata. Takođe opisani su ishodi pacijenata lečenih od lokalnih stadijuma karcinoma debelog creva. U metodama je detaljno opisana RT-PCR metoda ispitivanja genske ekspresije gena TGF β 1, CTNNB1 i OCLN. Takođe je opisana metoda imunohistohemijskog određivanja lokalizacije β -catenina u ćeliji. Statističke metode koje su korišćene u istraživanju, su precizno naznačene. Ova studija je sprovedena u skladu sa Helsinškom deklaracijom, a odobrena je i od strane Etičkog komiteta, Medicinskog fakulteta, Univerziteta u Beogradu. Gde je moguće, pacijenti su dali pisani pristanak pre uključjenja u studiju.

U poglavlju **rezultati** detaljno su opisani i jasno predstavljeni svi dobijeni rezultati.

Diskusija je napisana jasno i pregledno, uz prikaz podataka drugih istraživanja sa uporednim pregledom dobijenih rezultata doktorske disertacije.

Zaključci sažeto prikazuju najvažnije nalaze koji su proistekli iz rezultata rada.

Korišćena **literatura** sadrži spisak od 140 referenci.

B) Provera originalnosti doktorske disertacije

Na osnovu Pravilnika o postupku provere originalnosti doktorskih disertacija koje se brane na Univerzitetu u Beogradu i nalaza u izveštaju iz programa "iThenticate" kojim je izvršena provera originalnosti doktorske disertacije, utvrđeno je podudaranje od 13%. Ovaj stepen podudarnosti posledica je bibliografskih podataka u korišćenoj literaturi, korišćenja standardne metodologije odeljenja Eksperimentalne Onkologije Instituta za Onkologiju i Radiologiju Srbije, kao i prethodno publikovanih rezultata doktorandovih istraživanja, koji su proistekli iz njegove disertacije, što je u skladu sa članom 9. Pravilnika o postupku provere originalnosti doktorskih disertacija koje se brane na Univerzitetu u Beogradu („Glasnik Univerziteta u Beogradu“, broj 204/18).

C) Kratak opis postignutih rezultata

U istraživanju je pokušano da se analizom operisanih bolesnika sa karcinomom kolona i rektuma utiče na ispravljanje klinički odavno uočenih negativnih trendova, pre svega kasnog javljanja pacijenata na operativno lečenje. U ovom radu pokazali smo da se veliki broj bolesnika operiše se u lokalno odmaklom stadijumu bolesti, sa preko 90% obolelih u T3 i T4 stadijumu, a više od trećine pacijenata ima u času operacije zahvaćenost limfnih nodusa N2. Opšte stanje bolesnika je najčešće očuvano u vreme operacije, tumori su mnogo češće locirani u levom kolonu, a dijagnoza se neretko postavlja operacijom, u času akutnog pogoršanja tegoba i opšteg stanja. U radu su pokazane i odlike relapsa kao i ranih (unutar 12 meseci od operacije) relapsa bolesti. Zaključeno je da se najveći broj relapsa registruje u prve tri godine posle operacije, sa najvećom učestalošću unutar prve godine kao i da je relaps bolesti udružen sa predhodnim postojanjem pozitivnih limfnih nodusa i odmaklijim N statusom, lokalnom limfatičnom, vaskularnom i perineuralnom invazijom, odmaklijim T stadijumom, leukocitozom i elevacijom vrednosti CEA postoperativno. Rani relaps bolesti utiče na kraće ukupno i kancer-specifično preživljavanje, a češće se javlja kod bolesnika sa većim brojem zahvaćenih (N2) nodusa, kod eleviranih vrednosti CA19-9 i postoperativno registrovane anemije. U radu je pokazano da je i petogodišnje preživljavanje i kancer-specifično preživljavanje naših operisanih pacijenata koji su primali adjuvantnu hemioterapiju kraće u

poredjenju sa publikovanim rezultatima iz razvijenih zemalja. U Cox-regresionoj analizi, kao nezavisni faktori prognoze pokazani su stadijum bolesti, broj zahvaćenih limfnih nodusa (više od 4) i elevirana vrednost CA19-9. U analizi preživljavanja bez znakova bolesti, koje je takodje kraćeg trajanja u poredjenju sa literaturnim podacima, nezavisni parametri kraćeg preživljavanja bez progresije su: perforativni tumor na operaciji, vaskularna invazija, N2 stadijum i III klinički stadijum bolesti. U analizi ishoda posle relapsa bolesti, starosna dob pacijenta (stariji od 70 godina) i mucinozni histopatološki tip su nepovoljni nezavisni parametri preživljavanja. Parcijalno uradjena genska analiza potencijalnih biomarkera evolucije bolesti, posle resekcije velikih tumora (T3 i T4) kolona i rektuma pokazala je statistički značajno veću ekspresija TGF β 1 u uzorcima tumora koji će relapsirati, a vidjen je i trend posebno veće ekspresije kod ranih relapsa. Analizom lokalizacije β -catenin-a zaključeno je da se uzorcima dominatno nalazi membranska, neaktivna forma. Takođe, pokazana je ekspresija β -catenin i OCLN u uzorcima tumora, ali ove analize, kao i one na TGF β 1 nisu za sada omogućile dovoljno podataka o prognostičkoj vrednosti ovih gena u ispitivanoj grupi pacijenata, sa lokalnim i lokalno odmaklim tumorima kolona i rektuma.

D) Uporedna analiza doktorske disertacije sa rezultatima iz literature

U lokalnim i lokalno odmaklim stadijumima karcinoma debelog creva postoji stalna težnja definisanja molekularnih markera koji bi selektivnije ukazali na agresivnije tumore, čime bi se prevazišla heterogenost ordedenih stadijuma bolesti i pružila bi bolji uvid u individualni rizik pojedinačnog pacijenta. Oncotype (12 gena) i ColDx (18 gena) su komercijalno dostupni specifični paneli za molekularno profilisanje RT-PCR i mikroerej metodom, koji imaju dokazanu prognostičku vrednost, ali nisu ekonomski isplativi za zemlje grupe srednjeg dohotka, gde spada i Srbija. Stoga postoji potreba za ekonomski dostupnim, jednostavim metodama za molekularno profilisanje pacijenata u samim onkološkim centrima. U našem radu smo pokušali da određivanjem genske ekspresije pojediničnih gena koji su potencijalno geni loše prognoze, definišemo potencijalni prognostički marker. Ispitivanjem su dokazane visoke vrednosti ekspresije TGF β 1 u uzorcima tumora koji će relapsirati, podatak ranije dostupan u literaturi (Friedman E, 1996). Posmatrajući karakteristike obuhvaćene kohorte pacijenata sa lokalnim stadijumima kolona i rektuma, raspodela godina, pola je slična kao i u ranije objavljenim serijama (Howlader N i sar., 2020; O'Connell JB i sar., 2004; Chen HS, i sar. 2000). Prisutstvo lokalnih invazija (limfatične, vasukularne) kao i akutnih kliničkih stanja

pri kao primarna manifestacija karcinoma debelog creva je znatno učestalije u odnosu na literaturne podatke (Lim SB i sar., 2010, Chen HS i sar., 2000). Stopa relapsa, kao i godišnja stopa relapsa je u skladu sa ranijim serijama (Longo WE i sar., 2002). U do sada objavljenoj literaturi rani relaps bolesti je povezivan sa povišenim vrednostima CA19-9 postoperativno i odmaklim N statusom, što je potvrđeno i u našem istraživanju (Tsai H i sar., 2009). Rani relaps nije uticao na preživljavanje nakon progresije bolesti, što je u ranijim studijama dokazano (O'Connell MJ i sar., 2008; Huh JW i sar., 2008). U odnosu na svetske podatke primećen je trend kraćeg preživljavanja bez znakova bolesti, petogodišnje preživljavanja i kancer-specifičnog preživljavanja naših operisanih pacijenata (André T i sar., 2009).

E) Objavljeni radovi koji čine deo doktorske disertacije

Nikolic, N.; Radosavljevic, D.; Gavrilovic, D.; Nikolic, V.; Stanic, N.; Spasic, J.; Cacev, T.; Castellvi-Bel, S.; Cavic, M.; Jankovic, G. Prognostic Factors for Post-Recurrence Survival in Stage II and III Colorectal Carcinoma Patients. *Medicina (Kaunas)*. 2021;57(10):1108. ISSN:1010-660X, IF: 2.430 M22

F) Zaključak (obrazloženje naučnog doprinosa)

Doktorska disertacija „Procena prognostičkog potencijala molekularnih i kliničko-patoloških karakteristika lokalnog i lokalno odmaklog karcinoma debelog creva u predikciji ranog relapsa i ishoda pacijenata lečenih hemioterapijom“ dr Nede Nikolić, kao prvi ovakav rad u našoj populaciji predstavlja originalni naučni doprinos u razumevanju oboljevanja od lokalnih stadijuma karcinoma debelog creva u našoj populaciji. Pažljivom selekcijom pacijenata i dugim praćenjem, nakon završenog adjuvantnog lečenja, dobijeni su uvidi u prognostički potencijal kliničkih i patoloških parametara. Molekularna analiza je parcijalno izdvojila TGFβ kao potencijalni prognostički indikator pacijenata sa rizikom za relaps bolesti i samim tim loš ishod.

Ova doktorska disertacija je urađena prema svim principima naučnog istraživanja. Ciljevi su bili precizno definisani, naučni pristup je bio originalan i pažljivo izabran, a metodologija rada je bila savremena. Rezultati su pregledno i sistematično prikazani i diskutovani, a iz njih su izvedeni odgovarajući zaključci.

Na osnovu svega navedenog, i imajući u vidu dosadašnji naučni rad kandidata, komisija predlaže Naučnom veću Medicinskog fakulteta Univerziteta u Beogradu da prihvati doktorsku disertaciju dr Nede Nikolić i odobri njenu javnu odbranu radi sticanja akademske titule doktora medicinskih nauka.

U Beogradu, 31.03.2022.

Članovi Komisije:

Doc. dr Srđan Nikolić

N.Sav.dr Radmila Janković

Prof. dr Ivan Nikolić

Mentor:

Prof. dr Goran Janković

N.Sav. dr Davorin Radosavljević
