

NAU NOM VE U MEDICINSKOG FAKULTETA
UNIVERZITETA U BEOGRADU

Na sednici Nau nog ve a Medicinskog fakulteta u Beogradu, održanoj dana 28.04. 2016. godine, broj 5940/4 imenovana je komisija za ocenu završene doktorske disertacije pod naslovom:

„Zna aj serumske izoforme prostata specifi nog antigena i njegovih derivata u ranom otkrivanju karcinoma prostate”

kandidata mr sci. dr Ivana Vukovi a, zaposlenog na Urološkoj klinici u Beogradu, KCS, kao lekar specijalista urologije. Mentor je Prof. dr Aleksandar Vuksanovi .

Komisija za ocenu završene doktorske disertacije imenovana je u sastavu:

1. Prof. dr Miroslav or evi , vanredni profesor, Univezitetaska de ja klinika, Medicinskog fakulteta Univerziteta u Beogradu
2. Doc. dr Nebojša Bojani , docent, Urološka klinika KCS, Medicinskog fakulteta Univerziteta u Beogradu
3. Prof. dr Sava Mi i , redovni profesor u penziji, Medicinskog fakulteta Univerziteta u Beogradu.

Na osnovu analize priložene doktorske disertacije, komisija za ocenu završene doktorske disertacije jednoglasno podnosi Nau nom ve u Medicinskog fakulteta slede i

IZVEŠTAJ

A) Prikaz sadržaja doktorske disertacije

Doktorska disertacija mr sci. dr Ivana Vukovića napisana je na 111 strana i podeljena je na sledeće poglavlja: uvod, ciljevi rada, ispitanici i metode, rezultati, diskusija, zaključci i literatura. U disertaciji se nalazi ukupno 19 grafikona, 27 tabela i 4 slika. Doktorska disertacija sadrži sažetak na srpskom i engleskom jeziku, biografiju kandidata i podatke o komisiji.

U **uvodnom poglavlju** o karcinomu prostate prikazani su međunarodni i nacionalni epidemiološki podaci, faktori rizika za karcinom prostate i predstavljena je klasifikacija karcinoma prostate. Posebno je naglašen značaj rane detekcije karcinoma prostate u savremenom svetu, ali i problematika proistekla iz nastojanja da se karcinom prostate otkrije u ranoj fazi bolesti.

Zatim, izloženi su dijagnostički kriterijumi, gde je pored PSA testiranja, poseban osvrt dat na transrektalnu ultrasonografiju kao i na tehnike biopsije prostate. Predstavljene su indikacije za inicijalnu i ponavljanje biopsije, kao i komplikacije koje prate ovu proceduru.

Detaljno je prikazana sinteza i hemijska struktura prostata specifičnog antigena (PSA), njegovih izoformi i derivata, kao i koncept biološke uloge prostata specifičnog antigena. Posebno je analiziran problem nedostatka specifičnosti PSA i njegove nedovoljne senzitivnosti, kao i faktori koji mogu dovesti do promena vrednosti PSA u serumu, dovodeći na taj način do velikog broja lažno pozitivnih i lažno negativnih rezultata.

Posebno su razmatrani derivati PSA (PSA gustina - PSAD, dinamika rasta PSA u funkciji vremena - PSAV i udvostručenje bazične vrednosti PSA tokom vremena) uvedeni u pokušaju povećanja specifičnosti PSA i praćenja efekta terapije. Naravno je analiziran procentualni odnos slobodnog prema ukupnom PSA (%fPSA) koji se do tada pokazao kao jedini derivat koji je mogao da poveća sposobnost PSA u detekciji karcinoma prostate.

Opisane su i analizirane najvažnije studije koje su se bavile ovom problematikom. Sa daljim razvojem biomarkera, odnosno identifikacijom različitih izoformi slobodnog PSA, tako je prikazane najvažnije studije koje su ispitivale njihovu kliničku značajku u detekciji karcinoma prostate kao i njegovih agresivnih formi.

Ciljevi rada su precizno definisani. Sastoje se u analizi senzitivnosti, specifičnosti, kao i pozitivne i negativne prediktivne vrednosti novog biohemijskog markera p2PSA i njegovih derivata Phi i %p2PSA u detekciji karcinoma prostate kod pacijenata sa serumskim vrednostima PSA 2-10 ng/mL. Dalji cilj istraživanja bio je utvrđivanje prediktivnog značaja p2PSA i njegovih derivata, %p2PSA i Phi, u proceni agresivne forme karcinoma prostate (Gleason skor ≥ 7). Poseban cilj istraživanja je bio procena značajke vrednosti Phi ≥ 55 u otkrivanju agresivne forme karcinoma prostate (Gleason skor ≥ 7).

U poglavlju **Ispitanici i metode** jasno je navedeno je da su analize rađene na Klinici za urologiju KCS, Medicinskog fakulteta Univerziteta u Beogradu. Sve eksperimentalne procedure su odobrene od Etičkog komiteta Medicinskog fakulteta u Beogradu i sprovedene u skladu sa etičkim principima i smernicama. Opisana je detaljno laboratorijska metodologija određivanja PSA, fPSA, %fPSA, p2PSA i njegovih derivata Phi i %p2PSA. Korišćena je savremena biopsijska tehnika, transrektalno ultrazvučno vođenje, sa ciljem uzimanja 12, i po potrebi više isečaka tkiva prostate, prema jasno formulisanom protokolu.

Svi rezultati su predstavljeni tabelarno i grafički. Od analitičkih statističkih metoda korišćeni su testovi razlike i analiza povezanosti. Za analizu kontinuiranih vrednosti korišćeni su statistički parametarski testovi, a za dihotomne i nehomogene podatke statistički neparametarski testovi. ROC analiza korišćena je za ispitivanje diskriminacione moći ispitivanih parametara i izražavanje potencijalnih graninih vrednosti.

U poglavlju **Rezultati** detaljno su opisani i jasno predstavljeni svi dobijeni rezultati. Rezultati istraživanja su prikazani pomoću 4 slike, 19 grafikona i 27 tabela, i grupisani u nekoliko celina.

Prvu celinu čine rezultati analize demografskih podataka i analiza zastupljenosti karcinoma prostate i ostalih oboljenja prostate kod ispitanika. Drugu celinu čine rezultati

određivanja vrednosti PSA i njegovih derivata i Glison skora. Treće u celinu su rezultati analize PSA, tPSA, fPSA, %fPSA, p2PSA, %p2PSA i Phi kao markera za karcinom prostate. Takođe, prikazane su granice vrednosti za primenu PSA, tPSA, fPSA, %fPSA, p2PSA, %p2PSA i Phi u detekciji karcinoma prostate. Četvrta celina se bavi analizom nezavisnih prediktora u detekciji karcinoma prostate. Peta celina se bavi predikcijom agresivnih formi karcinoma prostate, u odnosu na starost ispitanika, vrednosti PSA i njegovih derivata.

Diskusija je napisana jasno i pregledno, sa poređenjem podataka drugih istraživanja i dobijenih rezultata doktorske disertacije, uz uporedni pregled literature. Diskusija je podeljena na devet celina: epidemiološka, PSA, fPSA, %fPSA, p2PSA, %p2PSA, Phi, identifikacija nezavisnih prognostičkih faktora karcinoma prostate i prediktori agresivnih formi karcinoma prostate GS 7. Na osnovu toga, kandidat je izneo svoje hipoteze i zaključke koji su značajni za uvođenje novih biohemijskih markera u rutinsku urološku praksu za detekciju karcinoma prostate, a naročito njegove agresivne forme.

U poglavlju **Zaključak**, kandidat je iz svojih rezultata izveo jasne i nedvosmislene zaključke:

1. Prosečna vrednost fPSA bila je značajno niža kod pacijenata sa karcinomom prostate u odnosu na grupu pacijenata bez ovog oboljenja. Takođe, rezultati ROC analize pokazali su više prelomnih tačaka u zavisnosti od željene senzitivnosti i specifičnosti. Prelomna tačka za vrednost 1,035, pri kojoj je senzitivnost analize (Sn) iznosila 60,9%, a specifičnost (Sp) 81,5%, pozitivna prediktivna vrednost (PPV) iznosila je 75%, a negativna prediktivna vrednost (NPV) 67,5%.
2. Prosečna vrednost %fPSA bila je značajno niža u posmatranoj grupi bolesnika sa karcinomom prostate. Rezultati ROC analize pokazali su više prelomnih tačaka. Pri najboljem odnosu Sn (68,8) i Sp (64,6%) granica na vrednost iznosila je 16,050. Pri Sn od 90% i Sp 40%, granica na vrednost bila je 11,4%, a PPV 59,85% i NPV 81,3%.
3. Kao najbolji marker u izvedenoj studiji pokazao se %p2PSA čija je prosečna vrednost bila značajno viša u grupi pacijenata sa malignim oboljenjem prostate. Rezultati ROC

analize pokazali su tri značajne prelomne tačke: za vrednost 1,245, PPV iznosila je 58,4%, a NPV 78,6%, pri Sn 90,8% i Sp 34,4%; za vrednost 1,673, PPV iznosila je 68,1%, dok je NPV bila 71,9%, pri Sn 75,4% i Sp 64,1%. Za prelomnu tačku 2,368, PPV iznosila je 82,4%, a NPV 61,1%, pri Sn 43,1% i Sp 90,6%.

4. Međusobni matematički odnos tri ispitivana markera PSA, fPSA i p2PSA, odnosno PHI, pokazao je značajno više prosečne vrednosti kod pacijenata sa karcinomom prostate u odnosu na pacijente sa benignim bolestima prostate. Rezultati ROC analize pokazali su više prelomnih tačaka: vrednost 47,045, za koju je Sn 54,7%, a Sp 75%; vrednost 41,670, za koju je Sn 64,1%, a Sp 62,5%; i vrednost 35,655, za koju je Sn 78,1%, a Sp 50,0%. Rezultati analize su takođe ukazali i na potencijalne vrednosti uz koje bi se identifikovale i odgovarajuće prediktivne vrednosti ovog markera: za vrednost Phi 27,480, PPV iznosi 55,2%, dok je NPV 73,9%, dok je za prelomnu tačku Phi 41,670, PPV iznosi 63,1%, dok je NPV 63,55. Za prelomnu tačku Phi 61,015, PPV iznosi 75,0%, a NPV iznosi 55,8%.
5. Analiza prediktivnosti prisustva karcinoma prostate pokazala je da su fPSA, %fPSA, %p2PSA i Phi, imali značajnu prognostičku vrednost.
6. Kod analiziranih pacijenata sa karcinomom prostate podeljenih u grupe prema vrednostima Phi, registrovan je trend porasta broja pacijenata u odnosu na rastuće vrednosti Phi. Skoro dve trećine pacijenata (70,6%) sa karcinomom prostate, imalo je vrednosti Phi ≥ 55 , nasuprot 29,4% pacijenata sa vrednostima Phi < 25 .
7. U grupama pacijenata sa karcinomom prostate formiranih na osnovu vrednosti Glison skora (GS < 7 i GS ≥ 7) registrovana je značajna razlika u vrednostima %p2PSA. Odnosno, jedino se na osnovu ovog markera može napraviti diskriminacija pacijenata sa klinički nesignifikantnim karcinomom i njegovom agresivnom formom. ROC analizom određene su tri prelomne tačke pri željenoj senzitivnosti i specifičnosti. Za Sp 92% i Sn 20% prelomna tačka iznosi 1,356; za Sp 56% i Sn 20% prelomna tačka je 2,459; i za Sp 32% i Sn 90% prelomna tačka iznosi 3,076.
8. Rezultati univarijantne regresione analize pokazali su da su jedino vrednosti %p2PSA bile značajan prediktor karcinoma prostate čiji je Glison skor ≥ 7 .

Koriš ena **literatura** sadrži spisak od 238 referenci.

B) Kratak opis postignutih rezultata

Ovo istraživanje je pokazalo da postoje mogu nosti za napredak na polju biohemijskih markera za ranu detekciju karcinoma prostate. Koriš enjem serumskih izoformi, p2PSA i njegovih derivata, %p2PSA i Phi, pove ana je specifi nost u detekciji karcinoma prostate u odnosu na do sada koriš ene testove, serumski PSA i procenat slobodnog PSA.

Ispitivana populacija je obuhvatila 129 pacijenata, prose ne starosti 64,6 godina. Pacijenti su, u odnosu na dobijeni patohistološki nalaz, podeljeni u dve grupe - grupu sa karcinomom prostate (50,4%) i grupu sa nemalignim oboljenjima prostate (49,6%).

Od ukupnog broja analiziranih pacijenata sa karcinomom prostate, 61,5% imalo je Glison skor 6, dok je 38,5% imalo Glison skor 7.

Vrednost serumskog PSA su bile prose no niže kod pacijenata sa karcinomom prostate, što dodatno potencira problem detekcije karcinoma prostate u takozvanoj sivoj zoni, odnosno pri vrednostima PSA ispod 10 ng/mL, gde se esto prepli u benigna i maligna stanja prostate.

Vrednosti fPSA i %fPSA bile su zna ajno niže kod pacijenata sa karcinomom, što je u skladu sa o ekivanjima. Vrednosti novog ispitivanog markera, odnosno serumske izoforme PSA, p2PSA, su bile sli ne u obe ispitivanje grupe, bez statisti ke zna ajnosti. Procentualni odnos p2PSA prema slobodnom PSA (%p2PSA) bio je zna ajno viši kod pacijenata sa karcinomom prostate, kao i Phi, koji je predstavljen matemati kim odnosom tri markera: PSA, fPSA i p2PSA.

Ispitivanje klini kog zna aja ovih markera vršeno je analizom površine ispod ROC krive. Najve u površinu ispod krive, od svih ispitanih markera, imao je %p2PSA (0,723), koji se time pokazao kao superioran me u ispitivanim markerima, dok su iza njega, statisti ku zna ajnost pokazali i fPSA (0,707), %PSA (0,693) i Phi (0,680). Pri zadatoj senzitivnosti od 90%, najve u specifi nost je imao %fPSA (40%), zatim %p2PSA (34,4%), dok je

specifičnost Phi iznosila 26,6%. Najmanju specifičnost pokazao je PSA, samo 9,2%, dok je specifičnost za p2PSA iznosila 13,4%.

Za sve ispitivane markere date su po tri granice vrednosti, u zavisnosti od izabrane specifičnosti i senzitivnosti, koje bi se mogle koristiti u rutinskoj urološkoj praksi za razlikovanje pacijenata sa i bez karcinoma prostate.

Usmeravanjem istraživanja u pravcu otkrivanja agresivnog karcinoma prostate (Gleason skor 7), jedinu statističku značajnost pokazao je i %p2PSA (AUC 0,673) dok je Phi (AUC 0,64) bio na granici konvencionalne značajnosti. Takođe, i ovde su prikazane granice vrednosti za željenu senzitivnost i specifičnost. Ostali ispitivani markeri (PSA, fPSA, %fPSA, p2PSA) nisu bili značajni u razlikovanju nesignifikantnog i agresivnog oblika karcinoma prostate.

Univarijantnim regresionim modelom, kao značajni prediktori karcinoma prostate, pokazali su se fPSA, %fPSA, Phi i najznačajniji %p2PSA. U predikciji agresivnog karcinoma univarijantnim modelom, značajnim prediktorima pokazali su se Phi i %p2PSA.

Multivarijantna regresiona analiza urađena je da bi se otkrilo koja od kombinacija biomarkera na najbolji mogući način predviđa karcinom prostate, dodavanjem novih ispitivanih markera (p2PSA, %p2PSA i Phi) u bazični model (PSA, fPSA, %fPSA). Pokazalo se, da su modeli sa tri nova markera značajni prediktori karcinoma prostate, od kojih se najboljim pokazao model koji je uključivao %p2PSA.

Za detekciju agresivne forme karcinoma prostate, u multivarijantnoj logističkoj regresionoj analizi, kao značajni prediktor pokazao se model sa %p2PSA, dok su modeli sa p2PSA i Phi bili blizu konvencionalnog nivoa značajnosti.

Takođe, studija je ukazala na značajan trend porasta broja pacijenata sa karcinomom prostate u odnosu na porast vrednosti Phi. Sa druge strane, sa porastom Phi primećen je trend rasta broja pacijenata sa agresivnim oblikom karcinoma prostate, iako to nije statistički dokazano.

C) Uporedna analiza doktorske disertacije sa rezultatima iz literature

Rezultati sprovedenog istraživanja ukazali su na performanse ispitivanih biomarkera u detekciji karcinoma prostate, kao i njegove agresivne forme. U predikciji karcinoma prostate kao najznačajniji markeri, sa najvećom površinom ispod ROC krive pokazali su se %p2PSA, %fPSA i Phi. Prva studija u kojoj je procenjena predikivna vrednost Phi i %p2PSA u detekciji karcinoma prostate, pokazala je da su ovi markeri znatno bolji prediktori od standardno korišćenih markera PSA i %fPSA (Le i sar., 2010). Istraživanje je pokazalo da su vrednosti %p2PSA i Phi bili značajno više u posmatranoj grupi pacijenata sa karcinomom prostate (Stephan C i sar., 2013; Boegemann i sar., 2016).

Prethodno objavljene meta analize pokazale su slične specifičnosti ovog markera pri senzitivnosti od 90% (Filella i Gimenez 2013; Wang i sar., 2014). Vrednosti prelomne tačke koja bi se mogle koristiti u kliničkoj praksi, za %p2PSA pri senzitivnosti od 90% bila je 1,245% što je u korelaciji sa drugim studijama (Myakubo i sar., 2011). Znatno niže granice vrednosti prijavili su drugi autori (Ito i sar., 2013, Ng i sar., CF). Prosečne vrednosti Phi bile su veće u grupi pacijenata sa karcinomom prostate (Stephan i sar, 2013). Granica na vrednost pri senzitivnosti 90% iznosila je 27,48%, što je veća vrednost nego u drugim studijama (Catalona i sar., 2001).

U skladu sa literaturnim podacima, ova studija je pokazala da su %p2PSA i Phi značajni prediktori agresivnijih formi karcinoma (Guazzoni i sar, 2012, Heidegger i sar., 2014, Folye i sar., 2016). Rezultati ovog istraživanja su u saglasju sa rezultatima sveobuhvatnog Lazzerijevog istraživanja (Lazzeri i sar, 2013). Nasuprot navedenoj studiji, u ovoj studiji se uočava da je značaj matematičkog Phi modela manji, dok je %p2PSA pokazao veći prediktivni potencijal.

Studija ukazuje da pri porastu vrednosti Phi značajno raste procenat pacijenata sa detektovanim karcinomom prostate, a da pri vrednostima Phi većim od 55, verovatno da pacijent ima agresivnu formu karcinoma prostate povećava se za 3,4 puta, što je u saglasnosti sa prethodnim studijama (Catalona i sar, 2011).

D) Objavljeni radovi koji ine deo doktorske disertacije

1. **Vukovic I**, Djordjevic D, Bojanic N, Babic U, Soldatovic I. PREDICTIVE VALUE OF [-2]proPSA (p2PSA) AND ITS DERIVATIVES FOR THE PROSTATE CANCER DETECTION IN THE 2.0 TO 10.0 ng/ml PSA RANGE. International Braz J Urol, 2016 (in press)

E) Zaključak (obrazloženje nau nog doprinosa)

Doktorska disertacija „**Zna aj serumske izoforme prostata specifi nog antigena i njegovih derivata u ranom otkrivanju karcinoma prostate**” Ivana Vukovi a predstavlja originalni nau ni doprinos u razumevanju neophodnosti uvo enja u klini ku upotrebu savremenih biohemijskih markera za detekciju karcinoma prostate kao i mogu nost predikcije njegove agresivne forme. Ispitivanje prediktivne vrednosti p2PSA i njegovih derivata u detekciji karcinoma prostate muškaraca sa umereno povišenim vrednostima PSA 2-10ng/ml do sada nije ra eno u našoj populaciji. Ovim ispitivanjem su pružene informacije o grani nim vrednostima ispitivanih biohemijskih markera koji sa zadovoljavaju im vrednostima senzitivnosti i specifi nosti mogu detektovati maligne promene u našoj populaciji muškaraca starijih od 50 godina. U injen je pokušaj da se identifikuje set prognosti kih biohemijskih markera (i njihovih me usobnih odnosa) koji ciljano ukazuju na rizi nu populaciju kojoj je potrebna invazivnija dijagnosti ka procedura (biopsija). Time bi se mogao smanjiti broj nepotrebnih biopsija prostate i svih prate ih komplikacija koje prate ovakvu intervenciju, kao i finansijskih troškova same intervencije, patohistološkog pregleda i primene antibiotika.

Upravo se u ovome nalazi konkretni i klini ki primenljiv nau ni doprinos doktorske disertacije dr Ivana Vukovi a.

Ova doktorska disertacija je ura ena prema svim principima nau nog istraživanja. Ciljevi su bili precizno definisani, nau ni pristup je bio originalan i pažljivo izabran, a metodologija rada je bila savremena. Rezultati su pregledno i sistemati no prikazani i diskutovani, a iz njih su izvedeni odgovaraju i zaklju ci.

Na osnovu svega navedenog, i imaju i u vidu dosadašnji nau ni rad kandidata, komisija predlaže Nau nom ve u Medicinskog fakulteta Univerziteta u Beogradu da prihvati doktorsku disertaciju mr sci. dr Ivana Vukovi a i odobri njegovu javnu odbranu radi sticanja akademske titule doktora medicinskih nauka.

U Beogradu, 31.05. 2016.

lanovi Komisije:

Prof. dr Miroslav or evi

Mentor:

Prof. dr Aleksandar Vuksanovi

Doc. dr Nebojša Bojani

Prof. dr Sava Mi i
