

NAU NOM VE U MEDICINSKG FAKULTETA  
UNIVERZITETA U BEOGRDU

Na sednici Nau nog ve a Medicinskog fakulteta u Beogradu, održanoj dana 14.07.2016. godine, broj 4940/6, imenovana je komisija za ocenu završene doktorske disertacije pod naslovom:

**„Ispitivanje intraduktalnih papilarnih mucinoznih neoplazmi pankreasa i njihove povezanosti sa ekstrapankreasnim malignitetima“**

kandidata dr Nikole Pani a, zaposlenog u Službi za digestivnu endoskopiju KBC „Dr Dragiša Mišovi -Dedinje“. Mentor je Doc. Dr Milutin Bulaji . Komentor je Prof. Dr Stefania Boccia, Università Cattolica del Sacro Cuore, Rim, Italija.

Komisija za ocenu završene doktorske disertacije imenovana je u sastavu:

1. Prof. dr Tatjana Pekmezovi , profesor Medicinskog fakulteta u Beogradu
2. Prof. dr Tatjana Simi , profesor Medicinskog fakulteta u Beogradu
3. Prof. dr Ivana Novakovi , profesor Medicinskog fakulteta u Beogradu
4. Prof. dr Miodrag Krsti , profesor Medicinskog fakulteta u Beogradu
5. Prof. dr Aleksandar Nagorni, profesor Medicinskog fakulteta u Nišu

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 doktorke disertacije**

Doktorska disertacija dr Nikole Pani a napisana je na ukupno 66 strana i podeljena je na slede a poglavlja: uvod, ciljevi rada, materijal i metode, rezultati, diskusija, zaklju ci i literatura. U disertaciji se nalazi ukupno 16 tabela i 7 slika. Doktorska disertacija sadrži sažetak na srpskom i engleskom jeziku, biografiju kandidata, podatke o komisiji i spisak skra enica koriš enih u tekstu.

U **uvodu** je definisano šta su to intraduktalne papilarne mucinozne neoplazme (IPMN) pankreasa i koji tipovi IPMN postoje. Navedena je detaljna klasifikacija IPMN prema

histomorfološkim i kliničkim karakteristikama. Dat je osvrt na epidemiologiju IPMN. Analizirani su faktori rizika za nastanak IPMN. Izložena je klinička prezentacija i prognoza IPMN kao i smernice za adekvatan tretman.

Naročito je analizirana je povezanost IPMN sa nastankom ekstrapankreatičnih maligniteta (EPM) i dat pregled literature koja se bavi datom korelacijom. Izložene su hipoteze koje bi mogle da objasne povezanost pacijenata sa IPMN ka razvoju EPM sa naročitim osvrtom na zajedničku genetsku osnovu. Posebno je istaknuta povezanost IPMN sa nastankom kolorektalnog karcinoma (CRC).

**Ciljevi teze** su precizno definisani. Primarni cilj teze je proceniti prevalenciju i incidenciju EPM-a u kohorti italijanskih pacijenata kod kojih je dijagnostikovano prisustvo IPMN i identifikovati faktore rizika za njihov nastavak. Sekundarni cilj teze je ispitati asocijaciju između IPMN i izabranih „single nucleotide polymorfizama“ (SNP) u okviru 8q24 regije humanog genoma. Tercijarni cilj teze je ispitati da li pacijenti sa IPMN imaju povezanost ka razvoju kolorektalnih adenoma.

U poglavlju **materijal i metode** navedeno je da doktorska teza obuhvata tri zasebne studije: multicentričnu bolničku studiju, studiju genetske asocijacije i kolonoskopsku studiju slučajeva i kontrola.

Cilj multicentrične epidemiološke bolničke studije bio je da utvrdi prevalenciju i incidenciju EPM u kohorti italijanskih pacijenata sa IPMN i identifikuje faktore rizika za njihov nastanak. Studija je uključila centre u Milanu, Modeni, Veroni, Bolonji, Pizi, Palermu i Rimu. Statistička analiza podrazumevala je izračunavanje „observed/expected (OE) ratio“ tj. odnosa između uočenog broja EPM i očekivanog broja u navedenoj populaciji.

Cilj studije genetske asocijacije bio je da se ispita da li je povezan rizik od nastanka EPM kod pacijenata sa IPMN povezan sa prisustvom odabranih SNP u 8q24 regionu (rs6993464, rs6983267, rs10505477, rs7014346). Detaljno je opisana procedura izolacije DNK iz periferne krvi pacijenata sa IPMN i kontrola, kao i procedura identifikacije navedenih SNP.

Cilj kolonoskopske studije slučajeva i kontrola bio je utvrditi da li su pacijenti sa IPMN u većem riziku od nastanka kolorektalnih adenoma u odnosu na opštu populaciju. Detaljno su opisani kriterijumi za regrutaciju pacijenata u studiju, metodologija kolonoskopskog ispitivanja kao i statistička analiza.

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 133 reference.

## **B) Kratak opis postignutih rezultata**

U multicentričnoj studiji devedeset sedam EPM je otkriveno kod 92 (23.6%) pacijenta sa IPMN. Od toga 78 (80.4%) su bili prethodni, 14 (14.4%) sinhroni i 5 (5.2%) metahroni EPM. Najčešće otkrivani EPM su bili karcinom dojke (15 slučajeva, 15.5%), CRC (12 slučajeva, 12.4%), karcinom bubrega (9 slučajeva, 9.3%), karcinom prostate (8 slučajeva, 8.2%), hematološki tumori (7 slučajeva, 7.2%) i karcinom štitne žlezde (5 slučajeva, 5.2%). Utvrđeno je značajno povišen O/E odnos za prevalentne EPM, i to za kolorektalni karcinom (2.26, CI 95%: 1.17-3.96), karcinom bubrega (6.00, CI 95%: 2.74-11.39) i karcinom štitne žlezde (5.56, CI 95%: 1.80-12.96). Takođe je, među pacijentima sa IPMN, identifikovan povišen rizik za karcinom pankreasa (O/E=20, 95% CI: 5.41-51.21). Starije doba, pušenje velike količine cigareta, konzumacija alkohola i postojanje prvog srodnika sa istorijom karcinoma želuca identifikovani su kao značajni faktori rizika za nastanak EPM kod pacijenta sa IPMN, dok je pozitivna porodna anamneza za kolorektalni karcinom bila granično značajna.

U studiji genetske asocijacije među pacijentima sa IPMN je bilo značajno više onih sa pozitivnom porodičnom istorijom malignih bolesti ( $p < 0.001$ ) kao i onih koji konzumiraju velike količine cigareta ( $p = 0.001$ ) i alkohola ( $p < 0.001$ ). Studija genetske asocijacije nije pokazala povezanost IPMN sa SNP rs6983267, rs6993464, rs7014346 i rs10505477.

U kolonoskopskoj studiji slučajeva i kontrola, među pacijentima sa IPMN je bilo značajno više onih koji konzumiraju alkohol ( $p < 0.01$ ) kao i onih koji konzumiraju više od 21 pića nedeljno ( $p < 0.05$ ). Takođe među slučajevima je bilo značajno više obolelih od hroničnog pankreatitisa ( $p < 0.001$ ), diabetes mellitus-a ( $p < 0.001$ ), kao i holecistektomiziranih ( $p < 0.01$ ). Što se tiče porodne istorije malignih bolesti, među pacijentima sa IPMN je bilo značajno više onih sa srodnicima drugog stepena obolelim od kancera ( $p < 0.05$ ), kao i srodnicima drugog stepena obolelim od karcinoma pankreasa ( $p < 0.05$ ). Sa druge strane među kontrolama je bilo značajno više onih sa srodnicima prvog stepena obolelim od CRC ( $p < 0.001$ ).

Kolorektalni polipi na eni su kod 52 (42.6%) pacijenta sa IPMN i 79 kontrola (32.1%) ( $p < 0.05$ ). Kod 29 slu ajeva (23.8%) i 57 kontrola (23.2%) histološko ispitivanje utvrdilo je da su u pitanju adenomatozni polipi ( $p = 0.90$ ). Nije bilo razlike između slu ajeva i kontrola kada je u pitanju bilo prisustvo polipa sa displazijom niskog stepena (19.7% vs. 19.8%,  $p = 0.98$ ), niti visokog stepena (4.9% vs. 4.5%,  $p = 0.85$ ). Otkrivena su i tri slu aja CRC, 2 među pacijentima sa IPMN (1.6%) i jedan među kontrolama (0.4%). Posle stratifikovanja pacijenata prema prisustvu porodičnoj istoriji CRC nije bilo razlike u prevalenciji kolorektalnih adenoma među slu ajevima i kontrolama.

### **C) Uporedna analiza doktorske disertacije sa rezultatima iz literature**

Više autora do sada je izvestilo da do 40% pacijenata sa IPMN takođe razviju EPM. Među najčešće otkrivenim kancerima kod pacijenata sa IPMN isti uključuju CRC, karcinom želuca, karcinom pluća, karcinom dojke i karcinom prostate. Mnoštvo drugih tumora takođe je otkriveno kod pacijenata sa IPMN. I pored toga, do sada dostupni podaci o asocijaciji između IPMN i EPM su ograničeni, naročito kada se radi o evropskoj populaciji. Sa izuzetkom jedne studije koja se bavila nastankom i faktorima rizika za EPM kod pacijenata sa IPMN u francuskoj populaciji, sve druge studije sporevedene su u Aziji ili Sjedinjenim Američkim Državama. Bolnica multicentrična studija, sprovedena kao deo ove doktorske teze, bila je, u momentu publikacije najveća studija koja se bavi asocijacijom IPMN i EPM u evropskoj populaciji. Studija je pronašla da 23.6% pacijenata sa IPMN takođe razviju EPM. Sem toga, pronađeno je značajno povišen O/E odnos za CRC, karcinom bubrega, karcinom štitne žlezde kao i hematološke kancere. Do sada su Eguchi i saradnici (2006) izvestili o značajno povišenom odnosu između otkrivenih i otkrivenih tumora kod pacijenata sa IPMN, naročito u odnosu na CRC. Rial i saradnici (2007) izvestili su o značajno povišenom riziku za hepatobilijarne karcinome, karcinom jednjaka, i gastrointestinalne stromalne tumore, kao i ograničeno povišenom rizikom za karcinoide i tumore urinarnog trakta. U svetlu navedenih činjenica, rezultati ove doktorske teze potvrđuju da su pacijenti sa IPMN u povišenom riziku za nastanak EPM.

SNP u humanom hromozomskom regionu 8q24 do sada su povezivani sa sklonošću ka nastanku kancera uopšte i posebno CRC. Većina opisanih asocijacija leži na segmentu od 128Mb na hromozomu 8. Za neke od SNP u 8q24 dokazano je da inter-reaguju sa protoonkogenom MYC. MYC je važan protoonkogen i njegova ekspresija je povezana sa nastankom velikog broja malignih tumora, uključujući i CRC. Region sadrži i nekoliko drugih

gena koji bi mogli biti funkcionalno povezani sa karcinogenezom uključujući i NOV koji kodira regulatorni protein iz CCN porodice. Štaviše, nedavne studije identifikovale su više SNP u navedenom regionu kao signifikantan faktor rizika za nastanak CRC, karcinoma dojke i karcinoma prostate, malignih tumora koji se značajno frekventnije sreću u kod pacijenata sa IPMN u odnosu na opštu populaciju. Među njima, najznačajniji SNP su rs6983267, rs6993464, rs7014346 i rs10505477. Na osnovu navedenog može se postaviti hipoteza da bi SNP u 8q24 regionu humanog genoma mogli biti odgovorni za nastanak EPM kod pacijenata sa IPMN. Međutim studija genetske asocijacije sprovedena u sklopu ove doktorske teze nije potvrdila da su rs6983267, rs6993464, rs7014346 i rs10505477 značajno frekventnije prisutni među pacijentima sa IPMN nego među kontrolama.

CRC predstavlja tumor koji se najčešće dijagnostikuje kod pacijenata sa IPMN. Mehanizam odgovoran za opisanu asocijaciju između IPMN i CRC nije do sada otkriven. Reid-Lombardo i koautori (2010) sprovedli su veliku retrospektivnu studiju slučajeva i kontrola na Mayo klinici i otkrili da se kolorektalni adenomi sreću 2 i 1.4 puta frekventnije kod pacijenata sa IPMN u odnosu na pacijente sa karcinomom pankreasa i opštu populaciju. Na osnovu ovih saznanja autori su sugerisali skrining kolonoskopije za sve pacijente sa IPMN. Adenom-karcinom sekvenca predstavlja dobro poznati mehanizam karcinogeneze odgovoran za nastanak skoro svih sporadičnih CRC. Bazirano na ovom dobro poznatom mehanizmu kao i rezultatima studije Reid-Lombarda i saradnika sprovedena je kolonoskopska studija slučajeva i kontrola u okviru ove doktorske disertacije kako bi se ispitala hipoteza da je rizik od nastanka CRC kod pacijenata sa IPMN posredovan povećanom sklonošću ka nastanku kolorektalnih adenoma. Međutim ova studija nije potvrdila da su pacijenti sa IPMN skloniji da razvijaju kolorektalne adenome u poređenju sa kontrolama. Rezultati su potvrđeni i posle stratifikacije prema porodičnoj istoriji CRC.

#### **D) Objavljeni radovi koji čine deo doktorske disertacije**

Larghi A, Panic N, Capurso G et al. *Prevalence and risk factors of extrapancreatic malignancies in a large cohort of patients with intraductal papillary mucinous neoplasm (IPMN) of the pancreas*. Ann Oncol. 2013;24:1907-11.

Panic N, Capurso G, Attili F et al. *Risk for Colorectal Adenomas Among Patients with Pancreatic Intraductal Papillary Mucinous Neoplasms: a Prospective Case-Control Study*. J Gastrointest Liver Dis. 2015;24:445-50.

*Panic N, Larghi A, Amore R et al. Single nucleotide polymorphisms within 8q24 are not associated with risk of intraductal papillary mucinous neoplasms of the pancreas. J Gastrointest Liver Dis. In press*

### **E) Zaključak (obrazloženje naučnog doprinosa)**

Doktorska disertacija „Ispitivanje intraduktalnih papilarnih mucinoznih neoplazmi pankreasa i njihove povezanosti sa ekstrapankreasnim malignitetima“ dr Nikole Panića, se na detaljan i sveobuhvatan način bavi pitanjem nastanka EPM kod pacijenata sa IPMN i donosi originalni naučni doprinos u razumevanju navedene asocijacije. IPMN kao patološki entitet se sve češće sreće u svakodnevnoj kliničkoj praksi. Kako je istraživanje u okviru teze pokazalo da su pacijenti sa IPMN zaista u povišenom riziku od nastanka ekstrapankreasnih maligniteta, navedena saznanja imaju značajan uticaj na vodiču za praćenje i tretman pacijenata sa IPMN. Kako su identifikovani tipovi kancera udruženi sa IPMN, i to CRC, karcinom bubrega i karcinom štitne žlezde, otkriva se da ubuduće pacijenti sa IPMN budu podvrgnuti skrining pregledima kako bi se navedeni tumori otkrili na vreme. Ipak, pored toga što istraživanje u okviru teze nije pokazalo udruženost IPMN sa nekim od ispitivanih SNP u 8q24 regionu humanog genoma, hipoteza o zajednici koje genetskoj osnovi kao uzroku nastanka EPM kod pacijenata sa IPMN i dalje je moguća. Stoga su rezultati navedenog istraživanja važni kako bi istraživači koji se bave navedenom hipotezom usmerili u pravom smeru. Konkretno, kako istraživanje u okviru teze nije pokazalo povezanost pacijenata sa IPMN sa formiranjem kolorektalnih adenoma, adenom-karcinom sekvenca nije mehanizam koji bi mogao da objasni povezanost IPMN sa nastankom CRC. Potrebno je testirati druge hipoteze kako bi se objasnila navedena asocijacija.

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 imaju i u vidu dosadašnji nau ni rad kandidata, komisija predlaže Nau nom ve u Medicinskog fakulteta Univerziteta u Beogradu da prihvati doktorsku disertaciju dr Nikole Pani a i odobri njenu javnu odbranu radi sticanja akademske titule doktora medicinskih nauka.

U Beogradu, 10.10.2016.

lanovi Komisije:

Prof. dr Tatjana Pekmezovi

---

Prof. dr Tatjana Simi

---

Prof. dr Ivana Novakovi

---

Prof. dr Miodrag Krsti

---

Prof. dr Aleksandar Nagorni

---

Mentor:

Doc. dr Milutin Bulaji

---

Komentor:

Prof. Dr Stefania Boccia

---