

**ИЗБОРНОМ ВЕЋУ
МЕДИЦИНСКОГ ФАКУЛТЕТА**

Предмет: Оцена научне заснованости теме докторске дисертације

Одлуком Изборног већа Медицинског факултета Универзитета у Крагујевцу од 15. 04. 2009. године број 01-2527/4-1 именовани смо у Комисију за оцену научне заснованости теме докторске дисертације под насловом **"ЕКСПРЕСИЈА HER-2 И p53 У ЋЕЛИЈАМА КАРЦИНОМИМА ЖЕЛУЦА"** кандидата асс мр сц. др Дракчета Радовановића.

Увидом у приложену документацију, Комисија у саставу:

1. Проф. др Небојша Арсенијевић, редовни професор Медицинског факултета Универзитета у Крагујевцу, за уже научне области: Микробиологија и имунологија; Онкологија – председник комисије
2. Проф. др Снежана Јанчић, редовни професор Медицинског факултета Универзитета у Крагујевцу, за ужу научну област: Патолошка анатомија, члан
3. Проф. др Љубиша Аћимовић, ванредни професор Медицинског факултета Универзитета у Крагујевцу, за ужу научну област: Хирургија, члан
4. Проф. др Иван Пауновић, ванредни професор Медицинског факултета Универзитета у Београду, за ужу научну област: Хирургија, члан

5. Доц. др. Слободан Милисављевић, доцент Медицинског факултета Универзитета у Крагујевцу, за ужу научну област: Хирургија, члан

подноси Изборном већу Медицинског факултета Универзитета у Крагујевцу следећи

ИЗВЕШТАЈ

Кандидат асс мр сц. др Дракче Радовановић испуњава све услове предвиђене Законом о високом образовању, Статутом Факултета и Правилником о пријави, изради и одбрани докторске дисертације, за израду докторске дисертације.

І ПОДАЦИ О КАНДИДАТУ

А. Лични подаци

Др Дракче Радовановић, специјалиста опште хирургије, асистент Медицинског факултета Универзитета у Крагујевцу и специјалиста хирургије Хируршке клинике, КЦ Крагујевац, рођен је 28. 09. 1962. године у селу Заврата, општина Лепосавић, Србија. Медицински факултет Универзитета у Београду, одељење у Крагујевцу, завршио је 1987. године са просечном оценом 8,43.

Специјалистички испит из опште хирургије положио је одличном оценом 1994. године. на Медицинском факултету Универзитета у Београду.

Магистарске студије на Медицинском факултету Универзитета у Крагујевцу завршио 1998. године јавном одбраном рада под насловом: **Хируршка интервенција у оптималном времену код акутног**

панкреатитиса - превенција некротичних облика акутног панкреатитиса и његових компликација.

Б. Списак публикованих радова:

Радови у међународним часописима објављени у целини:

1. Ђурђевић П, Радовановић Д, Сретеновић С, Нецин- Јовановић Ж, Живић Д, Богојевић Р, Ђукић С, Анђелковић А: Burkitt-ов нон Ходжкин-ов лимфом као могући узрок акутног абдомена- приказ случаја. КЦ Крагујевац. Ser J Exp Clin Res 2008;9 (3):111-115

Радови у националним часописима објављени у целини:

1. Матовић З, Милев Б, Радовановић Д: Псеудовисока терминација холедоха као узрок авулзије папиле Vater. Медицински часопис. 1995;34 (1-2):199:207
2. Матовић З, Радовановић Д: Превенција дехисценције шавова код гастректомија. Медицински часопис. 1995;34 (1-2).
3. Матовић З, Милев Б, Недељковић В, Радовановић Д, Ђурђевић В, Милев И: Постоперативне фистуле код гастректомија. Acta Chir. Yug. . 1995. s. 1. P087
4. Гигић А, Милев И, Матовић З, Радовановић Д: Спонтана ентероцитна фистула-последича нелечене инкарцерације. Acta Chir. Yug. 1995. S. 1 P100
5. Радовановић Д, Равић Б, Чановић Д, Матовић З, Недељковић В: Перфорације Meckel-овог дивертикулума. Acta Chir. Yug. 1995. S. 1. P189

II Подаци о предложеној теми

Предложена тема је из области онкогенезе карцинома желуца, и за циљ има да утврди да ли ниво експресије рецептора за епидермални фактор раста C-erbB-2 (HER-2) и туморсупресорски онкопротеин p53 корелира са стадијумима и градусима карцинома желуца.

А) Предмет рада

Карцином желуца, у највећем броју случајева аденокарцином, био је један од водећих узрока смрти од свих малигнитета током већег дела двадесетог века у свету. Крајем двадесетог века, у многим регионима света дошло је до драстичног пада појаве карцинома желуца. Супротно регистрованом паду инциденце карцинома желуца, инциденца карцином локализованог у проксималном делу желуца и споју желуца и абдоминалног једњака показује повећану инциденцу. Петогодишње преживљавање код карцинома желуца са 15,4% у 1973 години порасло на 21,8% у 1997 години. Према подацима Регистра за рак централне Србије и Регистра за малигне неоплазме Војводине, код мушкараца карцином желуца има већу инциденцу у односу на жене и на четвртом је месту по учесталости појављивања, иза малигнух тумора туморима плућа, дебелог црева и простате.

Етиологија карцинома желуца је мултифакторијална. Начин исхране, односно конзумација сланих јела, печених и пржених меса и намерница богатих нитритима, подгреваних јела, исхрана сиромашна А, Е и Ц витамином и смањен унос течности престављају доказане етиолошке факторе. Инфекција *Helicobacter pylori* као и Epstein-Barr вирусом је један од етиолошких фактора. Велике епидемиолошке студије показују да је инфекција *Helicobacter-om pylori* често удружена са другим факторима ризика као што су исхрана (низак ниво уноса витамина Ц, А и Е), пушење, гојазност, наслеђе. . .

Лезије означене као преканцерозна стања, као што су аденоматозни полип желудца, хронични атрофични гастритис, дисплазија, интестинална метаплазија и Menetrier-ова болест чине посебну групу етиолошких чинилаца.

Наследни фактор је такође од великог значаја. Познато је да су особе са крвном групом А са већом инциденцом настанка карцинома желуца. Слично стање је и са особама које имају пернициозну анемију, болују од синдрома Li-Fraumeni или су лечене због хередитарног неполипознок карцинома дебелог

црева. Истраживања Lauren из 1965 године, указују на постојање два хистолошка типа карцинома желуца, интенстинални и дифузни. Ово истраживање омогућило је боље разумевање етиологије и епидемиологије карцинома желуца. Интестинални тип настаје из преканцерских лезија типа атрофичног гастритиса и интестиналне метаплазије у желуцу, уочава се чешће код мушкараца, у старијој животној доби, и представља доминантни хистолошки тип у регионима где је карцином желуца ендемски, чиме се сугерише доминантна улога спољашњих етиолошких фактора у настанку овог типа карцинома. Промене у инциденци желудачног карцинома су примарно промене везане за интенстиналну форму. Дифузни тип супротно не настаје из преканцерозних лезија, најчешћи је у регионима где је карцином желуца редак, чешћи је код жена, удружен са крвном групом А, што сугерише генетску етиологију. Већина случајева карцинома желуца који се јављају као спорадични, најчешће немају у биологији свог настанка наследну компоненту. Само 8-10% случајева може да се повеже са наследним факторима.

Стадијума у коме се болест налази је основни предиктивни фактор прогнозе. Стадијум се одређује према патолошким карактеристикама а на основу препорука АЈСС/УИСС (American Joint Committee on Cancer/International Union Against Cancer) или према Јапанском систему стадијума желудачног карцинома. Стадијум тумора (Т) одређен је према туморској инвазији зида желуца и евентуланом ширењем на околне структуре. Стадијум захваћености регионалних лимфатика метастазама (N) базиран на броју, је прогностички значајнији него локација метастатских лимфних нодуса. Тумор код кога је у 1-6 лимфних жлезда присутан метастатски депозит означен је као pN1, од 7-15 као pN2 а преко 15 pN3. Према оваквој класификацији истраживања су показала да је преживљавање озбиљно снижено уколико је број метастатских депозита захватио више од 4 лимфна чвора, што доводи у сумњу прецизност ТНМ класификације по АЈСС/УИСС

систему одређивања стадијума. За разлику од AJCC/UICC система одређивања стадијума карцинома желуца, Јапански систем одређивања стадијума је детаљнији и прави прецизнију везу између клиничке и хируршке TNM класификације, као и патохистолошке те "крајње" или онколошке. По овом систему све регионалне лимфне жлезде као могућа места метастатских депозита подељене су у три групе. У I групи перигастричне лимфне жлезде (место жлезде 1-6), у II групи су жлезде дуж проксималног дела леве гастричне артерије (место 7), заједничке хепатичне артерије (8), целијачног трункуса (9), лијеналне артерије (11), хепатичне артерије. Парааорталне лимфне жлезде чине III групу. Такође у овом систему је уведен и макроскопски изглед тумора (по Vogtmann-овој класификацији), присуство перитонеалних метастаза (класификоване као P0-1), метстаза у јетри (N0-1), као и цитолошки налаз садржаја перитонеалне дупље(CY0-1). Поређењем ова два система класификовања карцинома желуца, дошло се до општег закључка да AJCC/UICC систем обезбеђује прецизну општу прогнозу, а Јапански систем прецизније индивидуално одређивање стадијума болести као и прогнозу.

Молекулске промене у ћелијама желуца играју значајну улогу у настанку ове болести. Како је у највећем броју случајева карцином желуца спорадичан по својој природи, могуће је да се у његовим различитим субгрупима одреде молекулска оштећења и промене које играју битну улогу у настанку и развоју ове болести. Већи број испитивања потврђује да током онкогенезе карцинома желуца долази до оштећења већег броја тумор супресорних гена, при чему су ове промене најчешће на 4, 5q, 9p, 18q, и 20q регионима. Оштећење различитих продуката гена који су укључени у регулацију ћелијског циклуса, регулаторне путеве раста ћелије, неоангиогенезе и структуре екстрацелулатног простора као што су (TGF)- β II рецептор (од енгл. transforming growth factor), *p53* гена, E-cadherin, као и рецептор за *HGF* (од енгл. hepatocyte growth factor), *EGF* (од енгл. epidermal growth factor), *FGF* (од енгл. fibroblast growth factor), *VEGF*

(од енг. vascular endothelial growth factor) и други, регистрована су у различитим субтипovima спорадичног карцинома желуца.

Очигледно је да прогноза карцинома желуца првенствено зависи од стадијума болести, али задњих деценија велика се пажња поклања проучавању биолошких маркера, њиховом учешћу у карциногенези, прогностичком и терапијском значају, као и евалуацији биолошког тока и клиничко-патолошких карактеристика желудачних карцинома.

У великом броју случајева карцинома желуца регистрована је висока експресија *p53*, али није утврђена корелација са прогнозом. У око 25% присутна је експресија HGF и EGF, док је алтерација рецептора за FGF присутна у већини желудачних карцинома. Експресија *c-erbB-2* је регистрована у малом броју ових карцинома (испод 10%), а када је присутна корелира са лошом прогнозом.

p53 антионкоген, сматра се чуваром генома, лоциран је на 17p хромозому и енкодира синтезу протеина тешког 53kD. Има централну улогу у регулацији ћелијског циклуса, ДНК репарацији и ћелијској апоптози. Мутације *p53* гена су изучаване у бројним хуманим карциномима, највише на карциномима дојке, колоне, езофагуса, желуца и лимфомима. Оверекспресија *p53* указује на мутацију *p53* гена, иако понекад *p53* може бити детектован и без присутне мутације. Бројна истраживања указују на клинички значај *p53* мутације код желудачних карцинома, међутим често су резултати опречни, са изузетком података о повезаности *p53* експресије и диференцијације тумора (интестинални наспрам дифузног типа) и корелације са лошом прогнозом тих пацијената. У последње време *p53* експресија представља и индикатор одговора на хемиотерапију.

C-erbB-2 (HER-2) онкоген је члан тирозин-киназне фамилије онкогена, лоциран на хромозому 17q и кодира синтезу трансмембранског гликопротеина, тешког 185kD. Учествује у контроли раста и диференцијацији неких типова

аденокарцинома. Код неких карцинома, а најевидентније код карцинома дојке, амплификација HER-2, корелира са високим метастатским потенцијалом и лошом прогнозом. Имунохистохемијска, заједничка, ткивна експресија HER-2 и p53 протеина, у туморима желуца је више пута анализирана, али су резултати ових истраживања контрадикторни, а одређивани прогностички значај конфликтан.

Б) Циљеви студије

Генерални циљ предложене студије је да се утврди клинички значај експресије поменутих онкопротеина тако шео ће се утврдити повезаност степена експресије са стадијумима и градусима тумора.

У складу са основним циљем истраживања постављени су конкретни циљеви:

ЦИЉ 1: Испита степен ткивне експресије и коекспресије C-erbB-2 (HER-2) и P53 у карциному желуца

ЦИЉ 2: Испита степен ткивне експресије C-erbB-2 (HER-2) и P53 у случајевима интестиналне метаплазије желуца која се сматра једним од најчешћих преканцерозних стања желуца.

ЦИЉ 3: Утврдити степен корелације експресије наведених молекула у карциномима желуца и преканцерозним стањима.

ЦИЉ 4: Утврдити да ли постоји корелација ових биолошких маркера са опште усвојеним патохистолошким карактеристикама тумора (хистолошки тип, нуклеарни градус, митотски индекс, лимфоцитна реакција, степен некрозе и тд).

В) Испитаници и методе

Истраживање је планирано у виду ретроспективне студије и биће изведено на Одељењу гастроинтестиналне хирургије, Хируршке клинике, КЦ Крагујевац, као и у Центру за патологију КЦ Крагујевац. Студија ће

обухватати 64 пацијената оба пола оболелих од карцинома желуца чије је лечење започето радикалним хируршким захватом и настављено према стадијуму болести одговарајућом онкхистолошки потврђено постојање интестиналне метаплазије.

Клиничка евалуација обухвата детаљну историју болести из које се одређује клиничка ТНМ класификација и која се пореди са патохистолошком ТНМ класификацијом на основу које се одређује дефинитивни стадијум болести. Преживљавање односно слободни интервал (стање до појаве метастатске болести) провери ће се на основу увида у матичну књигу умрлих и директним контактом са пацијентима.

Испитаници се деле у две групе које се пореде:

1. Група пацијената код којих је извршен радикална операција због карцинома желуца који је био у операбилном и ресектабилном стадијуму (64 болесника).

2. Група пацијената код којих је у извршен радикална операција у цињу лечења компликација бенигног оболења желуца које може бити преканцерозно.

3. Након дефинитивног патохистолошког извештаја болесници из преве групе биће подељени у подгрупе а према стадијуму болести.

На дефинитивном паохистолошком препарату појединачног карцинома желуца (pTNM класификација базирана на степену локалне туморске експанзије, присуству метастаза у регионалним лимфним жлездама и податке о удаљеним метастазама), имунохистохемијским бојењем одредиће се степен експресије p53 протеина и HER-2 рецептора према ASCO и CAP препорукама из 2007. године (Arch Pathol Lab Med, 2007).

Добијени резултати биће груписани у већ описане групе и подгрупе сагласно циљевима овог рада и радној хипотези. Очекује се груписање резултата у поодмакле стадијуме болести па ће формиране подгрупе захтевати не параметријске тестове (Mann-Whitney). Будући да је овај непараметријски

метод у неким ситуацијама инсуфицијентан за оваква истраживања примениће се Kolmogorov-Smirnov и Shapiro-Wilk тест. Користиће се такође и алтернативни χ^2 тест коју даје Mann-Whitney тест, јер у неким ситуацијама та алтернатива има већу снагу одбацавања нулте хипотезе него χ^2 тест. Да би видели све податке истовремено користиће се и Kruskal-Wallis-ов метод. Статистичка значајност утврђиваће се *p*-вредности мању од 0. 005. Све статистичке операције спроведиће се помоћу стандардног статистичког пакета „SPSS version 13“.

Г) Очекивани резултати

У овој судији очекујемо да ће се показати да је експресија наведених онкогена значајна код карцинома желуца и то се очекује велика експресија p53 протеина. Резултати би требало да покажу да је експресија p53 карактеристична за подмакле стадијуме карцинома желуца а експресија HER-2 рецептора одлика раних стадијума болести. Очекује се да код преканцерозних стања (интестинална метаплазија) експресија p53 не постоји или је изузетно ретка, а да присуство HER-2 рецептора је релативно честа појава. Претпоставља се да би p53 експресија могла бити специфична за карцинома желуца и као таква могући прогностички параметар. Супротно овој претпоставци, очекује се да експресија HER-2 рецептора није специфична за карцинома желуца, нит је значајна за прогнозу ове болести.

IV Закључак и предлог Комисије

На основу података презентованих у тачкама I и II овог извештаја Комисија доноси следећи

ЗАКЉУЧАК:

1. На основу досадашњег научно-истраживачког рада и публикованих резултата кандидат асс мр сц. др Дракче Радовановић испуњава све услове за одобрење теме и израду докторске дисертације.
2. Предложена тема је научно оправдана и поставља значајан циљ потврђивања два биолошка маркера као могуће нове предиктивне и прогностичке факторе за карцином желуца. Овака докторска теза омогућава увођење нових маркера у рутинску евалуацију карцинома желуца.
3. Комисија са задовољством предлаже Изборном већу Медицинског Факултета у Крагујевцу да прихвати пријаву теме докторске дисертације кандидата асс мр сц. др Дракчта Радовановића и сугерише Изборном већу да одобри и промену наслова тезе у: "**Корелација нивоа експресије HER-2 и p53 са стадијумом и градусом карцинома желуца**" и утврди предлог одлуке и проследи је Стручном већу Универзитета на даљи поступак.

У Крагујевцу, 09.09.2009. године

Комисија:

Проф. др Небојша Арсенијевић, редовни професор
Медицинског факултета Универзитета у Крагујевцу,
уже научне области: Микробиологија и имунологија;
Онкологија

Проф. др Снежана Јанчић, редовни професор
Медицинског факултета Универзитета у Крагујевцу,
уже научне области: Патолошка анатомија

Проф. др Љубиша Аћимовић, ванредни професор
Медицинског факултета Универзитета у Крагујевцу,
уже научне области: Хирургија

Проф. др Иван Пауновић, ванредни
професор Медицинског факултета
Универзитета у Београду, уже научне
области: Хирургија

Доц. др. Слободан Миљисављевић, доцент
Медицинског факултета Универзитета у
Крагујевцу, уже научне области: Хирургија
(грудна хирургија)