

УНИВЕРЗИТЕТ У КРАГУЈЕВЦУ

ФАКУЛТЕТ МЕДИЦИНСКИХ НАУКА

КРАГУЈЕВАЦ

1. Одлука Наставно - научног већа

Одлуком Наставно - научног већа Факултета медицинских наука Универзитета у Крагујевцу, број 01-11083/3-11 од 30.10.2013. године, именовани су чланови Комисије за оцену научне заснованости теме докторске дисертације кандидата др Зорке Инић, под називом:

„ИМУНОХИСТОХЕМИЈСКО ПРОУЧАВАЊЕ НЕОВАСКУЛАРИЗАЦИЈЕ И ПРОЛИФЕРАТИВНЕ АКТИВНОСТИ ТУМОРА ПАРАТИРОИДНЕ ЖЛЕЗДЕ”

На основу одлуке Већа, предложена Комисија у саставу:

1. **Проф др Александар Ђукић**, редовни професор Факултета медицинских наука Универзитета у Крагујевцу, за ужу научну област Патолошка физиологија, председник;
2. **Проф др Иван Пауновић**, редовни професор Медицинског факултета Универзитета у Београду, за ужу научну област Хирургија, члан;
3. **Проф др Светислав Татић**, редовни професор Медицинског факултета Универзитета у Београду, за ужу научну област Патолошка анатомија, члан;
4. **Проф др Снежана Јанчић**, редовни професор Факултета медицинских наука Универзитета у Крагујевцу, за ужу научну област Патолошка анатомија, члан;
5. **Проф др Слободан Милисављевић**, ванредни професор Факултета медицинских наука Универзитета у Крагујевцу, за ужу научну област Хирургија, члан.

Подноси Наставно - научног већу Факултета следећи:

2. Извештај комисије о подобности теме

2.1. Кратка биографија

Др Зорка Инић је рођена 04.12.1981. у Косовској Митровици. Основну школу и VI Београдску гимназију, Природно-математички смер, завршила је у Београду са одличним успехом. Медицински факултет у Београду завршила је 2008. године.

По завршеном приправничком стажу положила је стручни испит за доктора медицине.

Од маја 2009. године засновала је радни однос на неодређено време на Институту за онкологију и радиологију Србије, у служби хирургије. У априлу 2011. уз сагласност Министарства здравља Републике Србије и Управе Института за онкологију и радиологију Србије у Београду, уписала је специјалистичке студије из области Опште хирургије на Медицинском факултету Универзитета у Београду.

Докторске академске студије на Медицинском факултету Универзитета у Крагујевцу, изборно подручје Онкологија, уписала је 2008/2009. године.

Усмени докторантски испит из Онкологије је положила 18.02.2011. са оценом 10 (десет).

Члан је American Society of Clinical Oncology (ASCO) и European School of Oncology (ESO).

Присуствовала је на већем броју међународних и домаћих конгреса.

2.2. Наслов, предмет и хипотеза докторске дисертације

Наслов : „ИМУНОХИСТОХЕМИЈСКО ПРОУЧАВАЊЕ НЕОВАСКУЛАРИЗАЦИЈЕ И ПРОЛИФЕРАТИВНЕ АКТИВНОСТИ ТУМОРА ПАРАТИРОИДНЕ ЖЛЕЗДЕ”

Предмет: Предмет ове студије је да испита корелацију између неоваскуларизације и ћелијске пролиферације код карцинома паратиroidе, као и да испита њихову повезаност са осталим клиничким и патолошким параметрима који су од значаја за лошу прогнозу овог тумора (тј. туморски раст, захваћеност околних структура, метастазе у регионалним лимфним жлездама, удаљене метастазе и старост пацијента).

Хипотеза: Претпоставка је да постоји корелација нивоа експресије Ki 67 и ендоглина са хистопатолошким карактеристикама карцинома паратиroidне жлезде. Потом да, нивои локалне експресије Ki 67 и ендоглина су у позитивној корелацији са серумским нивоима РТН, као и да нивои експресије Ki 67 и ендоглина су у позитивној корелацији са патолошким параметрима лоше прогнозе паратиroidног карцинома.

2.3. Подобност кандидата

А. Кандидат је објавила један рад у целини у међународном часопису са рецензијом, у коме је први аутор, чиме је испунила услов за пријаву докторске тезе:

- **Zorka Inic**, Momcilo Inic, Milan Zegarac, Ivana Inic and Gordana Pupic-Three Cases of Combined Therapy in Primary Breast Lymphoma (PBL) with Successful Outcomes. Clinical Medicine Insights: Oncology. 2013 Jul 4;7:159-63. doi: 10.4137/CMO.S12044. Print 2013.PubMed (M51)

Б. Кандидат је такође, објавила и више радова у домаћим и међународним часописима са рецензијом, у којима је аутор или коаутор.

1. Зорка Инић : Меланом коже-дијагностика и терапија. Санамед 2010;5(87-93). ISSN-1452-662X.

2. **Zorka Inic**, Gordana Pupic, Marko Buta, Merima Oruci, Radan Dzodic. Desmoid Tumor of the Breast – A Case Study. Oncosurgery Journal vol.5 # 3\2013. ISSN 2077/4230. (M52)

3. Žegarac M, Nikolić S, Gavrilović D, Jevrić M, Kolarević D, Nikolić-Tomašević Z, Kocić M, Djurišić I, **Inić Z**, Ilić V. Prognostics factors for longer disease free survival and overall survival after surgical resection of isolated liver metastasis from breast cancer J BUON vol.18,no.4,2013. (M23)

В. Кандидат је такође, имала и два абстракта прихваћена и штампана 2012 и 2013. године на ASCO конгресима (M34):

1. **Zorka Inic**, Momcilo Inic, Milan Zegarac et al. Breast cancer in a patient with multiple endocrine neoplasia type 1 (MEN 1): A case report and review of the literature. 2012 ASCO Annual Meeting Abstract No: e21136 (Abstract Book)

2. Momcilo Inic, **Zorka Inic** et al. V600E mutations in metastatic melanoma: Case report. 2013 ASCO Annual Meeting Abstract No: e20002 (Abstract Book)

Г. Рад саопштен на скупу националног значаја, који није штампан у изводу (M64):

1. Редовни састанак Хируршке Секције СЛД-а у Новом Пазару 21. септембра 2012. "Биопсија сентинел лимфног нодуса код диферентованог тиреоидног карцинома и одлука о селективној модификованој радикалној дисекција врата". Проф др Радан Џодић, др Иван Марковић, др Игор Ђуришић, др Марко Бута, др Марко Јеврић, др Мерима Оручи, др Зорка Инић, др Зорка Миловановић, др Гордана Пупић, Институт за Радиологију и Онкологију Србије, Београд

Д. Рад са међународног скупа објављени у изводу (M34):

1. Radan Dzodic, Ivan Markovic, Igor Djurisc, Marko Buta, Marko Jevric, Merima Oruci, **Zorka Inic**, Zorka Milovanovic, Gordana Pupic. Sentinel lymph node biopsy in thyroid carcinoma and decision for selective modified radical neck dissection. 15th European Congress of Endocrinology Copenhagen, Denmark 27 April 2013 - 01 May 2013.

Endocrine Abstracts (2013) 32 P1087 |DOI:10.1530/endoabs.32.P1087

2.4. Преглед стања у подручју истраживања

Око 290 случајева карцинома паратиroidее су обрађени у енглеској литератури између 1930 и 1992. године. Од 1992. више од 100 случајева је пријављено. У већини серија овај ентитет чини мање од 1% болесника са примарним хиперпаратироидизмом. Болест је нешто учесталија у Јапану него у западним земљама, што чини 5% болесника са примарним хиперпаратироидизмом. Скорашње публикације су документовале високу стопу локалног рецидива карцинома паратиroidее, која износи 40-60% током првих 5 година.

Петогодишње преживљавање према објављеним публикацијама се креће од 40-86%, а десетогодишње 49-77%.

2.5. Значај и циљ истраживања

1. Доказивањем значајног нивоа експресије пролиферативног нуклеарног антигена и степена неоангиогенезе је могуће издвојити болеснике са високим ризиком за прогресију малигне болести и болеснике са високим ризиком за еволуцију аденома у карцином.
2. Идентификацијом прогностичких параметара се може избећи нефокусиран приступ у постоперативном третману карцинома паратироидне жлезде, чиме би се омогућила индивидуализација и евентуална селективна антитуморска терапија применом инхибитора неоангиогенезе.

Б. Циљеви

Основни циљ овог истраживања је испитивање повезаности експресије маркера ћелијске пролиферације (Ki67) и неоангиогенезе (CD105) са серумским нивоима PTH и класичним прогностичким параметрима паратироидних аденома и карцинома. У складу са основним циљем постављени су следећи циљеви:

1. Анализа дистрибуције паратироидних тумора у односу на демографске карактеристике болесника (животна доб и пол).
2. Анализа паратироидних аденома и карцинома у односу на патолошки стадијум тумора (величина примарног тумора, степен локалне туморске експанзије, присуство метастаза у регионалним лимфним жлездама и удаљене метастазе) и у односу на хистопатолошке карактеристике (хистолошки образац раста, фиброза, инвазија капсуле, инфилтрација околних структура, инвазија лимфатика, ангиоинвазија и перинеурална инвазија).
3. Диференцијација паратироидних тумора у односу на серумске нивое PTH, калцијума и неорганског фосфата у серуму на туморе који су праћени и на оне који нису прима примарним хиперпаратироидизмом.
4. Анализа имунохистохемијске експресије CD105 (ендоглина) и нуклеарног пролиферативног антигена Ki67 у ткивним исечцима паратироидних аденома и карцинома.
5. Корелација вредности експресије CD105 (ендоглина) и нуклеарног пролиферативног антигена (Ki67) са серумским нивоима PTH и клиничко-патолошким параметрима тумора

2.6. Веза истраживања са досадашњим истраживањима

Примарни хиперпаратироидизам је један од најчешћих ендокриних поремећаја који је у преко 80% случајева изазван тумором (аденом или карцином) паратироидне жлезде. У класичној цитопатологији је познато да целуларни и нуклеарни атипизам и митозе могу, али и не морају да буду присутне у карциному паратироидне жлезде, тако да су инвазија околног ткива и метастатско ширење једина два сигурна критеријума малигнитета за малигне туморе паратироидне жлезде.

Познато је да цитолошке карактеристике и митотска активност карцинома паратироиде могу прилично да варирају показујући преклапања са налазом који се виђа код аденома, па се ове карактеристике тумора не могу користити као поуздан параметар малигнитета. Једина два сигурна критеријума малигнитета, за малигне туморе паратироидне жлезде, су инвазија околног ткива и метастатско ширење .

Будући да је појава метастаза истовремено и најважнији прогностички фактор у болесника са карциномом, то је одредђивање метастатског потенцијала примарног тумора од великог значаја за прогнозу болести. Метастатско ширење тумора обезбеђује добро развијена мрежа микроциркулације. Запажено је да степен ангиогенезе може предвидети појаву метастаза у многим туморима. Бројне студије су показале да је густина туморске микроциркулације (MVD) независан прогностички фактор у предвиђању исхода многих карцинома . MVD говори о броју крвних и лимфних судова по јединици површине. MVD се може одредити употребом различитих имунохистохемијских маркера који се везују за различите компоненте ендотелних ћелија. Велика предност CD105-ендоглина у односу на друге ендотелне маркере се огледа у томе што се он везује само за активирани ендотелне ћелије, односно за ендотелне ћелије у пролиферацији (оне ендотелне ћелије које учествују у туморској ангиогенези). Даље, ендоглин се не везује за запаљенске и стромалне ћелије и тиме смањује број лажно позитивних резултата .

Такође, важан прогностички фактор за малигне туморе је и пролиферативни индекс туморских ћелија. Постоји сагласност у литератури да је нуклеарни пролиферативни антиген Ki67 одличан маркер за испитивање пролиферативне активности тумора, будући да се експримира током свих активних фаза ћелијског циклуса (G1, S, G2 и митоза), а да његова експресија изостаје у G0 фази циклуса. Позитивна корелација између експресије Ki67, клиничког тока и метастатског потенцијала тумора различите хистогенезе је истакнута од стране многих истраживача. Такође, студије су показале да нуклеарни пролиферативни антиген Ki67 може бити одличан маркер у разликовању карцинома од аденома.

Интересантно је да до сада није публикована ни једна студија у којој је испитиван ендотелни маркер CD105-ендоглин у карциномима паратироиде, што свакако повећава значај ове студије.

2.7. Методе истраживања

А. Врста студије

Ретроспективна клиничко-експериментална студија

Б. Популација која се испитује

Ретроспективном студијом би били обухваћени болесници различитог животног доба, који су оперисани, због тумора у паратироидној жлезди, у Центру за ендокрину хирургију Клиничког центра Србије, у периоду од 2001-2012. године. Након тога препати су достављени Служби за патологију Центра за ендокрину хирургију, где су узорци ткива укалупљени у парафинске блокове са којих су прављени исечци за патохистолошку верификацију лезија. Парафински блокови су након постављене дијагнозе болести архивирани. Подаци о полу и животној доби, сцинтиграфији параштитастих жлезда, локализацији, као и о нивоу паратироидног хормона, калцијума и неорганског фосфата у серуму би били добијени из медицинске документације.

В. Узорковање

У овом истраживању би се користио биопсијски (хистопатолошки) оперативни материјал, који је укалупљен у парафинске блокове и архивиран у Служби за патологију Центра за ендокрину

хирургију КЦС, у периоду од 2001-2012 године. На основу стандардних патохистолошких извештаја, из тог периода, би формирали експериментални групу коју би чиниле оперативне биопсије аденома (n = 40) и карцинома (n = 10) паратироидних жлезда. Контролну групу, у овој студији би чинило 10 нормалних паратироидних жлезда уклоњених током тиреоидектомије и лобоистмектомије.

Г. Варијабле истраживања

Независне варијабле

- Демографске карактеристике испитаника (подаци о полу и животној доби)
- Локализација (горња или доња параштитаста жлезда)
- Сцинтиграфски налаз параштитастих жлезда (описан као појачано везивање или хиперактиван нодус)
- Серумски нивои РТН
- Серумски нивои калцијума и неорганичног фосфата
- Симптоми и клинички знаци (симптоми: болови у костима, болови у зглобовима, болови у мишићима, слабост, малаксалост, полиурија, повраћање, полидипсија, реналне колике, наузеја, опстипација; знаци: патолошке фрактуре костију, мрки тумори, нефролитијаза, хипертензија, хронична бубрежна инсуфицијенција, остеопороза)
- Макроскопски изглед тумора (промер, тежина)
- Хистолошки образац туморског раста (солидан, трабекуларни, фоликуларни..)
- Десмоплазија
- Некроза
- Калцификације
- Инвазија капсуле
- Инфилтрација околних структура
- Васкуларна инвазија
- Инвазија лимфатика
- Перинеурална инвазија
- Метастазе у регионалним лимфним чворовима
- Удаљене метастазе

Зависне варијабле

- Експресија Ki67
- Густина туморске микроциркулације (MVD)

Д. Снага студије и величина узорка

Величина узорка процењена је на основу публикације Ricardo V. Lloyd, J. Aidan Carney et al. (13) о имунохистохемијској анализи хелијског циклуса антигена Ki67 код 35 аденома и 24 карцинома паратироиде. 5 нормалних паратироидеа и 10 хиперплазија су испитиване као контролне групе. Нађено је да је Ki67 index значајно повишен код карцинома у поређењу са аденомима ($7.1 \pm 1.0\%$ vs $2.4 \pm 0.2\%$, $p < 0.001$). На основу овога, а коришћењем статистичког програма „Power and Sample Size Calculations, Version 3.0.12“, планирамо студију која се састоји од две групе: прва је експериментална и обухвата 10 пацијената и друга је контролна која обухвата 40 пацијената. Дистрибуција одговора у свакој групи у претходном истраживању је нормална са стандардном девијацијом 2. У случају да је права разлика између експерименталне и контролисане групе 4.7, биће могуће да одбијемо нулту хипотезу која тврди да су средња вредност популације експерименталне и контролне групе једнака са вероватноћом (снагом) 1,000. Грешка вероватноће I врсте повезана с овим нутим тестом хипотезе је 0,05.

Ђ. Статистичка анализа података

На почетку истраживања све варијабле описаћемо класичним дескриптивним методама статистике. Номиналне и ординалне варијабле описаћемо расподелом учесталости њихових категорија. Омерне варијабле описаћемо класичним мерама централне тенденције: минималном и максималном вредношћу, аритметичком средином и стандардном девијацијом и медијаном. Добијени резултати биће приказани табеларно и графички.

Pirsonovim χ^2 тестом (таблицама контингенције) тестираћемо међузависност између дво-и вишекатегоријалног исхода (зависна варијабла је номиналног или ординалног типа) и дво-или вишекатегоријалних појединачних коваријабли које могу бити потенцијални предиктори исхода (независна варијабла такође је номиналног / ординалног типа).

Избор теста за анализу нумеричких обележја посматрања зависиће од природе расподеле података. У случају нормалне расподеле користићемо једнофакторску анализу варијансе и Bonferroni тест за анализу разлика између група, а код расподеле различите од нормалне користићемо Kruskal Wallis-ов тест, а за међугрупну анализу Mann Whitney U тест.

У оквиру посматране групе испитаника са тумором паратироидне жлезде одређиваће се повезаност вредности експресије Ki 67 и микроваскуларне густине (MVD) и посматраних општих карактеристика испитаника и клиничке слике болести помоћу мултиваријантне линеарне регресије. Овом анализом одређиваће се и предиктори разлике у односу на испитиване антигене. Гранична вредност за прихватање радне хипотезе биће постављена на $p < 0.05$

2.8. Очекивани резултати докторске дисертације

Очекујемо да се утврди корелација експресије Ki67 и Ендоглина са серумским нивоима РТН, са величином тумора и са метастатским потенцијалом карцинома, чиме би се идентификовали прогностички параметри за туморе паратироидне жлезде.

2.9. Оквирни садржај дисертације

Примарни хиперпаратироидизам је један од најчешћих ендокриних поремећаја који је у преко 80% случајева изазван тумором (аденом или карцином) паратиroidне жлезде.

Циљ ове студије је да испита корелацију између неоваскуларизације и ћелијске пролиферације код карцинома паратиroidе, као и да испита њихову повезаност са осталим клиничким и патолошким параметрима који су од значаја за лошу прогнозу овог тумора (тј. туморски раст, захваћеност околних структура, метастазе у регионалним лимфним жлездама, удаљене метастазе, старост пацијента)

За истраживање ће се користити биопсијски материјал добијен након оперативног лечења тумора паратиroidе у периоду од 2001-2012. год. који је укупљен у парафинске блокове и архивиран у Служби за патологију Центра за ендокрину хирургију КЦС у Београду.

Нашу циљну групу ће чинити пацијенти оболели од примарног хиперпарадиroidизма. Диференцијацијом лезија ћемо направити следеће експерименталне групе: аденом (n=40) и карцином параштитасте жлезде (n=10). Контролну групу ће чинити 10 нормалних паратиroidеа.

Очекује се да ће резултати студије показати да ли је разлика у експресији ендоглина, Ki 67 корисна у разликовању аденома и карцинома.

Очекује се и да су резултати студије добијени квантитативном анализом експресије испитиваних маркера у корелацији са клиничким и патолошким карактеристикама, да су од значаја за лошу прогнозу карцинома параштитасте жлезде, да ће допринети бољем разумевању понашања овог тумора, помоћи у прогнози и допринети развоју нових терапијских приступа и могућих предиктивних дијгностичких метода.

2.10. Предлог ментора

За ментора рада, Комисија предлаже **Проф др Ивана Пауновића**, редовног професора Медицинског факултета Универзитета у Београду, за ужу научну област Хирургија.

2.11. Научна област дисертације

Медицина. Уже области: Онкологија, Хирургија и Патологија.

2.12. Научна област чланова комисије

1. **Проф. др Александар Ђукић**, редовни професор Факултета медицинских наука Универзитета у Крагујевцу, за ужу научну област Патолошка физиологија, председник;
2. **Проф др Иван Пауновић**, редовни професор Медицинског факултета Универзитета у Београду, за ужу научну област Хирургија, члан;
3. **Проф др Светислав Татић**, редовни професор Медицинског факултета Универзитета у Београду, за ужу научну област Патолошка анатомија, члан;
4. **Проф др Снежана Јанчић**, редовни професор Факултета медицинских наука Универзитета у Крагујевцу, за ужу научну област Патолошка анатомија, члан;
5. **Проф др Слободан Милисављевић**, председник, ванредни професор Факултета медицинских наука Универзитета у Крагујевцу, за ужу научну област Хирургија.

Закључак и предлог комисије

На основу досадашњег научно - истраживачког рада и публикованих резултата, кандидат др Зорка Инић испуњава све услове за одобрење теме и израду докторске дисертације.

Предложена тема је научно оправдана, дизајн истраживања је прецизно постављен и дефинисан, методологија је јасна. Студија би била оригинално научно дело, којом очекујемо да ће се утврдити корелација експресије Ki67 и Ендоглина са серумским нивоима РТН, са величином тумора и са метастатским потенцијалом карцинома, чиме би се идентификовали прогностички параметри за туморе паратироидне жлезде.

Комисија предлаже Наставно-научном већу Медицинског факултета у Крагујевцу да прихвати пријаву теме докторске дисертације кандидата др Зорке Инић под називом :

„ИМУНОХИСТОХЕМИЈСКО ПРОУЧАВАЊЕ НЕОВАСКУЛАРИЗАЦИЈЕ И ПРОЛИФЕРАТИВНЕ АКТИВНОСТИ ТУМОРА ПАРАТИРОИДНЕ ЖЛЕЗДЕ“

и одобри њену израду.

1. **Проф др Александар Ђукић**, редовни професор Факултета медицинских наука Универзитета у Крагујевцу, за ужу научну област Патолошка физиологија, председник;

2. **Проф др Иван Пауновић**, редовни професор Медицинског факултета Универзитета у Београду, за ужу научну област Хирургија, члан;

3. **Проф др Светислав Татић**, редовни професор Медицинског факултета Универзитета у Београду, за ужу научну област Патолошка анатомија, члан;

4. **Проф др Снежана Јанчић**, редовни професор Факултета медицинских наука Универзитета у Крагујевцу, за ужу научну област Патолошка анатомија, члан;

5. **Проф др Слободан Милисављевић**, ванредни професор Факултета медицинских наука Универзитета у Крагујевцу, за ужу научну област Хирургиј, члан а.

У Крагујевцу, 12.11.2013. године