

NAUČNOM VEĆU MEDICINSKOG FAKULTETA
UNIVERZITETA U BEOGRADU

Na sednici Naučnog veća Medicinskog fakulteta u Beogradu, održanoj dana 28.04.2016. godine, broj 5940/4, imenovana je komisija za ocenu završene doktorske disertacije pod naslovom:

„ Procena individualnih prediktivnih faktora za nastanak karcinoma kolona “

kandidata mr sci. dr Ratka Tomaševića, zaposlenog na Medicinskom fakultetu u Beogradu kao kliničkog asistenta na Katedri za internu medicinu-uža naučna oblast gastroenterologija i u nastavnoj bazi Medicinskog fakulteta u Beogradu - Kliničko bolničkom centru Zemun-Beograd na Klinici za internu medicinu - Službi za gastroenterologiju sa hepatologijom.

Mentor je Prof. dr Tomica Milosavljević

Komisija za ocenu završene doktorske disertacije imenovana je u sastavu:

1. Prof. dr Miodrag Krstić, redovni profesor Medicinskog fakulteta Univerziteta u Beogradu
2. Prof. dr Tatjana Pekmezović, redovni profesor Medicinskog fakulteta Univerziteta u Beogradu
3. Prof. dr Gradimir Golubović, redovni profesor Medicinskog fakulteta Univerziteta u Beogradu, profesor u penziji

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

IZVEŠTAJ

A) Prikaz sadržaja doktorske disertacije

Doktorska disertacija mr sci. dr Ratka Tomaševića napisana je na 173 strane i podeljena je na sledeća poglavlja: uvod, ciljevi istraživanja, materijal i metode, rezultati, diskusija, zaključci i literatura. Doktorska disertacija sadrži sažetak na srpskom i engleskom jeziku, biografiju kandidata, podatke o komisiji i prilog.

U **Uvodu** je definisano osam jasnih odeljaka- predikcija rizika u kome se teoretski razmatraju mogućnosti procene faktora rizika uopšte i savremeni trendovi u ovoj oblasti, potom opšti aspekti kolorektalnog karcinoma, sledi odeljak o epidemiološkim karakteristikama kolorektalnog karcinoma kod nas i u svetu gde se posebna pažnja obraća na spoljašnje faktore koji bi se mogli dovesti u vezu sa promenama trendova obolevanja u pojedinim regijama i državama. Posebna pažnja je posvećena faktorima rizika za karcinom kolona koji se detaljno analiziraju u četvrtom delu uvoda. Sledeći odeljak obrađuje patogenetske mehanizme u nastanku kolorektalnog karcinoma sa posebnim osvrtom na genetske promene koje se nalaze u osnovi ove bolesti. Zatim slede delovi koji se bave morfološkim, kliničkim i dijagnostičkim karakteristikama kolorektalnog karcinoma i prevencijom i ranom detekcijom ovog oboljenja kao pristupom koji daje najznačajnije rezultate u borbi sa ovim globalnim problemom. U osmom odeljku se govori o Bayes-ovoj analizi, njenim teoretskim osnovama i značaju njene primene u medicini kao novog matematičkog i statističkog pristupa u analizi, prepoznavanju i proceni faktora rizika.

Ciljevi rada su precizno i jasno definisani. Sastoje se od utvrđivanje prediktivnog značaja pojedinih demografskih, naslednih, socioekonomskih i dijetetskih faktora kao rizičnih u nastanku kolorektalnog karcinoma. Analiza individualnih faktora rizika podređena je cilju

identifikacije najznačajnijih u nastanku bolesti. Sledeći cilj je bio dizajniranje novog grafičkog okvira (Bayes-ove mreže) za izdvajanje relevantnih faktora rizika za nastanak kolorektalnog karcinoma a potom upoređivanje nalaza doijenih Bayes-ovom analizom sa rezultatima dobijenim logističkom regresionom analizom. Cilj je bio i procena prediktivnog značaja opštih laboratorijskih analiza u ranim fazama bolesti a posebno utvrđivanje značaja biomarkera karcinoma kolona - karcinoembrionskog antigena i karbohidratnog antigena 19-9 kao najšire korišćenih prediktora prisustva tumora u detekciji obolelih u ranim, kurabilnim fazama bolesti. Cilj utvrđivanja potencijalnih obrazaca koji bi pomogli u izdvajanju osoba sa povećanim rizikom za nastanak ove bolesti ima svrhu poboljšanja primarne prevencije kolorektalnog karcinoma.

U poglavlju **Materijal i metode** opisan je protokol studije, sa jasnim opisom mesta sprovođenja studije, preciznim navođenjem inkluzionih i ekskluzionih kriterijuma za uključivanje ispitanika u studiju. Potom su opisani biohemijski i klinički parametri koji su određivani kod ispitanika, kao i precizna metodologija njihovog određivanja. Za potrebe studije je, da bi se prikupile relevantne informacije vezane za faktore rizika, dizajniran specijalni upitnik. Pitanja su se odnosila na širok spektar potencijalnih uticaja nepromenljivih i promenljivih rizičnih faktora. Dijagnostika kolorektalnog karcinoma je podrazumevala kliničke, endoskopske, histopatološke i laboratorijske preglede, ultrazvuk i kompjuterizovanu tomografiju u skladu sa dobrom kliničkom praksom. U statističkoj analizi prediktivne sposobnosti pojedinih parametara korišćena je binarna logistička regresiona analiza. Dijagnostička tačnost tumorskih markera utvrđena je izračunavanjem senzitivnosti, specifičnosti i primenom Receiver Operating Characteristics (ROC) krive. Za potrebe Bayes-ove analize korišćena je serverska verzija BayesiaLab 5.4 softvera. Bayes-ova mreža napravljena uz pomoć logičkog pristupa i komplikovanih matematičkih procedura definiše međusobne uticaje faktora na ciljni događaj bez obzira na smer njihovog dejstva i utvrđuje veze između pojedinačnih faktora.

U poglavlju **Rezultati** detaljno su opisani svi dobijeni rezultati i jasno predstavljeni tabelarno (62) i grafički (44).

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 376 referenci.

B) Kratak opis postignutih rezultata

U ovoj doktorskoj disertaciji sprovedena je studija slučajeva i kontrola, kojom je obuhvaćeno 372 ispitanika podeljenih u dve grupe. U prvoj grupi se nalazio 181 bolesnik sa histološki potvrđenom dijagnozom karcinoma kolona i 191 ispitanik u drugoj, kontrolnoj grupi koji su lečeni zbog akutnih, neneoplastičnih razloga. Od ukupno ispitivanih 63 potencijalno rizičnih faktora u predikciji nastanka kolorektalnog karcinoma Bayes-ovom analizom je izdvojeno 26 sa najvećim stepenom korelacije, logističkom regresionom analizom je izdvojeno 12 a od njih je u međusobnoj korelaciji izdvojeno 8 od kojih najveću prediktivnu moć pokazuju konzumiranje crvenih mesa, mesnih prerađevina i prisustvo karcinoma kolona u porodici. Značajnu prediktivnu vrednost ispoljili su i slanija hrana, starosna dob, bračni status, fizička aktivnost i uzimanje aspirina. Bayes-ovom mrežom su jasno prikazane veze pojedinih faktora rizika sa centralnim događajem – kolorektalnim karcinomom i na njoj se jasno uočava položaj pojedinih faktora. Njihova blizina odnosno udaljenost u odnosu na centralni događaj ukazuje na jačinu njihovih veza koje mogu biti pozitivne i negativne a koje se tumače uz pomoć poznatih saznanja i tumačenja stručnjaka iz oblasti.

Konstruisani grafikon Bayes-ove mreža na jednostavan način prikazuje uticaje, uključujući i posredne analiziranih faktora na nastanak karcinoma kolona. Naive Bayes analiza faktore sa najvećim stepenom Pearsonove korelacije raspoređuje u Bayes-ovoj mreži neposredno uz ciljni događaj. U ovom slučaju to su mesne prerađevine, konzumiranje crvenih mesa i slanija hrana sa Pearsonovim stepenima korelacije od 0,335, 0,291 i 0,264, redom. Bayes analiza izdvaja pojavu karcinoma kolona u porodici kao važan prediktivni faktor i

grafički je mreža prikazuje kao direktnu granu sa Pearsonovim stepenom korelacije od 0,118, a takođe i za godine starosti se nalazi Pearsonov koeficijent korelacije 0,136 i položaj u mreži na direktnoj grani. Fizička aktivnost i upotreba aspirina umanjuju rizik za nastanak karcinoma kolona što se može zaključiti iz vrednosti Pearsonovog koeficijenta i položaja u mreži.

Logističkom regresionom analizom, i po Enter i po Forward LR modelu u koju su istovremeno uključeni faktori koji su u analizi pojedinačnih faktora imali značajnu prediktivnu moć, kao i faktori na granici značajnosti, izdvojeno je osam faktora koji imaju značajnu prediktivnu sposobnost za pojavu kolorektalnog karcinoma a to su prisustvo karcinoma kolona u porodici (OR = 2,431), konzumiranje crvenih mesa (OR = 2,480) i mesnih prerađevina (OR = 2,107). Značajnu prediktivnu sposobnost ispoljili su i konzumiranje slane hrane (OR = 1,495), starosna dob (OR = 1,059), bračni status (OR = 0,279), fizička aktivnost (OR = 0,457) i uzimanje aspirina (OR = 0,481). Iako su analitički pristupi ove dve metode različiti, uočava se visok stepen podudarnosti između nalaza Bayes-ove mreže i logističke regresione analize.

ROC kriva potvrđuje da istovremeno testiranje CEA i CA 19-9 (AUC 0.842) ima najveću senzitivnost i specifičnost kod ranih faza bolesti.

C) Uporedna analiza doktorske disertacije sa rezultatima iz literature

Odnos između nastanka karcinoma kolona i spoljašnjih uticaja kao faktora rizika davno je i nedvosmisleno potvrđen. Prema Danskoj studiji (Kirkegaard H i sar. 2010.) saopšteno je da bi praćenje preporuka zdravog životnog stila koji podrazumeva fizičku aktivnost, zdravu ishranu, kontrolu abdominalne gojaznosti, prestanak pušenja i nekonzumiranje alkohola u velikim količinama moglo prevenirati 23% slučajeva kolorektalnog karcinoma. Prema poslednjim saopštenjima SZO u razvijenim zemljama zapada ova bolest pokazuje tendenciju održavanja ili pada incidencije dok se u siromašnim delovima sveta taj odnos pogoršava upravo zbog vesternizacije života i poboljšavanja materijalnih uslova.

Poseban značaj se ogleda u tome što je kolorektalni karcinom jedan od najčešćih tumora u svetu i kod. Prema saopštenju GLOBOCAN-a u 2012. godini je bilo oko 1,4 miliona novootkrivenih bolesnika, što je oko 10% od svih karcinoma kod ljudi.

U ovom istraživanju je nađen 1,5 puta veći rizik kod muškaraca dok se prema svetskim izveštajima (Abotchie i sar 2012.) on kreće između 1,2 i 1,6 puta više kod muškog pola. Važan faktor, potvrđen i u ovom ispitivanju, je porodična anamneza kolorektalnog karcinoma. U odnosu na kontrolnu grupu potvrđena je statistička značajnost ovog događaja kao važnog elementa u patogenezi karcinoma kolorektuma (14,8% vs 7,4%) dok je relativni rizik za nastanak bolesti gotovo 2,2 puta veći (OR 2,169). Ovakvi nalazi su potvrđeni i poslednjim ispitivanjima (Samadder i sar 2015.) Studija Qin M. i sar (2015.) nalazi da uzimanje aspirina 100 mg/nedeljno više od jedne godine smanjuje rizik od nastanka karcinoma kolona. Protektivna doza aspirina od 100 mg je pokazala protektivni efekat kod naših ispitanika jer je njegovo uzimanje bilo statistički češće u kontrolnoj grupi. Bayes-ovom analizom je nađeno smanjenje rizika kod osoba koje hronično uzimaju protektivne doze aspirina (Kullback-Leibler-ova divergencija -0,111), a i logističkom regresijom potvrđeno smanjenje rizika za nastanak karcinoma kolona (OR 0,615). Među najvažnijim nalazima ovog istraživanja je potvrda da najveći rizik nosi ishrana bogata crvenim mesima, mesnim prerađevinama i slanija hrana. Logističkom regresijom je dobijeno da višegodišnje konzumiranje crvenih mesa pre nastanka bolesti nosi OR 2,603, mesnih prerađevina OR 2,304 i slanije hrane OR 1,524. To je u skladu sa nalazima velikog broja autora pa i poslednjim iz 2015. godine Songa i sar. sa visokim stepenom dokaza da konzumiranje crvenog i obrađenog mesa prema meta analizi povećava rizik od nastanka karcinoma kolona za 20%. Qin M. (2015.) i sar. naglašavaju da je 30 do 70% svih karcinoma kolona povezano sa ishranom i to naročito sa crvenim mesom i mesnim prerađevinama.

Poznato je da zdrav način života podrazumeva i povećanu fizičku aktivnost. Logističkom regresionom analizom fizička aktivnost je pokazala značajan protektivni efekat u odnosu na nastanak karcinoma kolona (OR 0,482) u ovom ispitivanju. Većina autora smatra da sedentarni način života i smanjena fizička aktivnost dovode do povećanog rizika od nastanka kolorektalnog karcinoma (Moradi i sar . 2008., Kirkegaard i sar. 2010).

Pored predikcije rizika od velikog je značaja i rana detekcija obolelih a nalazi ove studije ukazuju da istovremeno testiranje CEA i CA 19-9 (ROC kriva AUC 0.842) može poboljšati sigurnost i povećati dijagnostičku senzitivnost u identifikaciji osoba sa ranim kurabilnim fazama karcinoma kolona. Ovi nalazi su u skladu sa izveštajima drugih autora koji postavljaju osnovu panela biomarkera koji bi u kombinaciji sa CEA poboljšali ranu detekciju karcinoma kolona (Thomas i sar 2015.).

D) Objavljeni radovi koji čine deo doktorske disertacije

Tomašević R, Milosavljević T, Stojanović D, Gluvić Z, Dugalić P, Ilić I, Vidaković R.
Predictive value of carcinoembryonic and carbohydrate antigen 19-9 related to some clinical, endoscopic and histological colorectal cancer characteristics. J Med Biochem 2016; 35: 1-5.

E) Zaključak (obrazloženje naučnog doprinosa)

Doktorska disertacija “ **Procena individualnih prediktivnih faktora za nastanak karcinoma kolona** “ mr sci. dr Ratka Tomaševića predstavlja originalni naučni doprinos u razumevanju mehanizama i proceni prediktivnih faktora koji učestvuju u povećanju rizika za nastanak karcinoma kolona.

Uzimajući u obzir podatke iz literature, zajedno sa rezultatima prikazanim u okviru ove doktorske disertacije, ukazuje se na izdvojene, najvažnije faktore rizika za nastanak karcinoma kolona i sugeriše na značaj prepoznavanja faktora rizika u opštoj populaciji. Novi

način ekstrakcije faktora uz pomoć novog pristupa, Bayes-ove analize svakako je originalni doprinos u analizi ovog problema. Ovakav grafički pristup ukazuje na kompleksnost međusobnih uticaja analiziranih faktora koji se ne mogu obuhvatiti formalnim rezonovanjem. Dok se logističkom regresionom analizom može izračunati rizik za karcinom kolona koji nose pojedini faktori, Bayes-ova analiza ukazuje na postojanje veze između faktora i određene pojave i određuje stepen povezanosti ali ne implicira uzročnost pa su tu neophodna određena predznanja vezana za poznavanje date oblasti. Model konstruisan u ovom istraživanju ima individualnu prediktivnu moć za svakog pacijenta i može pomoći lekarima da izdvoje one koji zaslužuju posebnu pažnju i individualne, specifične preporuke za svakog pacijenta ponaosob. Sa takvim saznanjima bi dalja edukacija pacijenata bila poboljšana a i bilo bi i olakšano davanje pravih saveta od strane lekara. Procena da se radi o riziku postojanja već nastale bolesti, značajno bi bila olakšana dodavanjem u mrežu podataka o specifičnim biomarkerima koji su direktnom vezom povezani sa bolešću.

Ovo istraživanje je jedan od prvih pokušaja da se Bayes-ovom metodom izdvoje značajni faktori rizika za kolorektalni karcinom i napravi mreža koja će omogućiti jednostavno zaključivanje o rizicima njenim posmatranjem. Na osnovama dobijenih rezultata novim matematičkim pristupom u kombinaciji sa standardnim statističkim metodama dobija se dopunski signal na razvijanju daljih strategija sa glavnim ciljem - poboljšanjem primarne prevencije ove bolesti.

Autor je konstatovao i limitacije ove studije - sećanja ispitanika su nedovoljno pouzdana, navike su promenljive u toku života pre bolesti, a zbog straha od bolesti ispitanici često daju netačne odgovore i prikrivaju neke loše navike. U studiji se ne govori o dužini uzimanja određenih namirnica u ishrani, njihovom kvalitetu kao i različitim kombinacijama unete hrane.

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 Ratka Tomaševića i odobri njenu javnu odbranu, radi sticanja akademske titule doktora medicinskih nauka.

U Beogradu, 16.05.2016.

Članovi Komisije:

Prof. dr Miodrag Krstić

Prof. dr Tatjana Pekmezović

Prof. dr Gradimir Golubović

Mentor:

Prof. dr Tomica Milosavljević
