

## **NAUČNOM VEĆU MEDICINSKOG FAKULTETA UNIVERZITETA U BEOGRADU**

Naučno veće Medicinskog fakulteta u Beogradu na svojoj sednici od 22.12.2011. godine odredilo je članove Komisije za ocenu završene doktorske disertacije pod nazivom „Procena vrednosti NMP 22 testa u dijagnostici tumora gornjeg urotelijuma,, , kandidata Mr sci med dr Mirka Jovanovića. Mentor za izradu doktorske disertacije je Prof.dr Jovan Hdži-Djokić.

U komisiju su imenovani: Prof.dr Aleksandar Vuksanović, doc.dr Zoran Džamić i VNS dr Nataša Lalić, Inst.za med.biohem. Farmaceutski fakultet.

Komisija je pregledala doktorsku disertaciju Mr sci med dr Mirka Jovanovića i podnosi naučnom veću Medicinskog fakulteta u Beogradu sledeći

### **IZVEŠTAJ**

Doktorska disertacija Mr sci med dr Mirka Jovanovića pod nazivom „Procena vrednosti NMP 22 testa u dijagnostici tumora gornjeg urotelijuma,, napisana je na 137 strana kucanog teksta i podeljena na 6 poglavlja, sadrži 77 tabela, 48 grafikona, 10 slika i 97 referenci iz domaće i strane literature. Disertacija se sastoji iz uvoda, cilja, materijala i metoda, rezultata, diskusije i literature.

#### **A. Prikaz sadržaja disertacije**

U poglavlju Uvod autor je pored istorijata vezanog za primenu tumorskih markera u detekciji tranziciocelularnih karcinoma izneo i pregled rezultata dosadašnjih istraživanja koja su se bavila utvrđivanjem njihovih mogućnosti.

Cilj rada je jasno definisan i obuhvata određivanje mogućnosti NMP 22 testa u dijagnostici tumora gornjeg urotelijuma uz poređenje dobijenih rezultata sa vrednostima dobijenim kod urin citologije kao referentne metode.

U poglavlju Materijal i metode definisan je protokol ispitivanja kojim je obuhvaćeno 102 bolesnika (39 žena i 63 muškarca) obolelih od karcinoma prelaznog epitela gornjih mokraćnih



puteva, u različitim stadijumima bolesti. 66 pacijenta imala su tumor pijelona i/ili kaliksa a 36 pacijenata tumor uretera. Svakom pacijentu uzeta su po dva uzorka urina. Prvi u vidu izmokrenog (ukupnog) urina i drugi u vidu separatnog urina, dobijenog kateterizacijom ureteralnim kateterom obolelih gornjih mokraćnih puteva. Oba uzorka poslata su na analizu NMP22 testom i urincitologijom. Kontrolna grupa bila je sačinjena od 50 pacijenata različite životne dobi, koji su ispitivani zbog bubrežne kalkuloze (24 pacijent sa kalkulusom pijelona i 26 sa kalkulozom kaliksa) i bili pripremani za lečenje kalkuloze ESWL (ekstrakorporalna litotripsija udarnim talasima). Svim pacijentima iz kontrolne grupe uzeta su takođe po dva uzorka urina. Pacijentima kontrolne grupe prethodno je urađen ultrasonografski pregled, Rtg nat i IVP te nije utvrđeno prisustvo tumorskog oboljenja. Oba uzorka urina pacijenata iz kontrolne grupe takođe su ispitivana NMP22 testom i urincitologijom.

U prikazivanju rezultata istraživanja korišćene su statističke tabele distribucije frekvencija, kao i neposredna analiza tabelarnih podataka i analiza na osnovu grafičkog prikazivanja. Prikazani podaci, bilo u apsolutnim ili relativnim brojevima služili su za uočavanje karakteristika i donošenje zaključaka.

Za testiranje značajnosti razlike obeležja korišćeni su univarijantne metode, neparametrijski testovi, kao i testovi proporcije kod atributivnih obeležja ( $\chi^2$  test i test proporcije). Za testiranje značajnosti razlike neparametrijskim obeležja korišćeni Kruskal Wallis-test, kojim se analizirao uticaj prediktora na zavisnu varijablu i R.O.C. kriva, koja pokazuje prediktivnu vrednost, odnosno verovatnoću kojom se opredeljuje veza izmedju zavisne varijable i prediktora. Statistička obrada i analiza urađena je u SPSS-u ver.12.0, a grafičko i tabelarno prikazivanje urađeno je u Microsoft office-u tj. u Excel-u i kasnije u Word-u, kao i Power Pointu.

Rezultati rada su prikazani tekstom, tabelama i grafikonima.

U Diskusiji je na adekvatan i sistemačan način analiziran značaj dobijenih rezultata sa aspekta kliničke prakse kao i rezultata drugih studija.

## B. Rezultati

Rezultati ispitivane grupe prikazuju statistički značajnu povezanost pozitivnih nalaza sa visinom T stadijuma. Statistički značajno najčešće pozitivan NMP 22 u separatnom urinu je u T3 stadijumu za  $\chi^2=8,064, p<0,05$ .



Najčešće negativan NMP 22 u izmokrenom urinu statistički značajno imaju pacijenti sa Ta stadijumom. Spirmanov R koefocijent=0,374 dokazuje statistički značajnu direktnu korelaciju, za  $p<0,029$ , češći negativan nalaz NMP 22 korelira sa Ta stadijumom, kako raste stadijum češći su pozitivni nalazi NMP 22 u izmokrenom urinu pacijenata. Najčešće pozitivan NMP 22 u separatnom urinu statistički značajno imaju pacijenti sa višim T stadijumom. Spirmanov R koefocijent=0,453, dokazuje statistički visokoznačajnu direktnu korelaciju, za  $p<0,0001$ , češći pozitivan nalaz NMP 22 u separatnom urinu korelira sa T3 stadijumom.

Rezultati citologije takođe pokazuju najčešće pozitivne nalaze u T3 odnosno T4 stadijumu. Dobijene vrednosti senzitivnosti za NMP 22 test kreću se od 37,5% za Ta stadijum do 92,3% u T3 stadijumu, odnosno 100% za T4. Senzitivnost citologije je u rasponu od 25% u Ta stadijumu do 92,3 % u T3 odnosno 100% u T4 stadijumu oboljenja.

U zavisnosti od patohistološkog gradusa tumora statistički značajno najčešće pozitivan rezultat za NMP 22 test i citologiju kako separatnog tako i izmokrenog urina u ukupno ispitivanoj grupi imaju pacijenti sa gradusom III. Posmatrajući senzitivnost NMP 22 testa i urincitologije ne postoji statistički značajna razlika. Vrednosti senzitivnosti za NMP 22 test se kreću od 28,6% za Gr I tumore do 91% za G III dok su za citologiju vrednosti od 14,3% za tumore Gr I, do 81,8 % za tumore gr III.

Posmatrajući rezultate dobijene iz tri grupe pacijenata, podeljene prema nivou rizika, uočava se da statistički najčešće pozitivne rezultate i NMP 22 testa i citologije imaju pacijenti u ispitivanoj grupi sa visokim rizikom. Najnižu senzitivnost NMP 22 test imalo su pacijenti u grupi sa niskim stepenom rizika od 37,5% a najvišu u grupi visokog rizika od 88,9%. Vrednosti senzitivnosti citologije bile su u korelaciji sa nalazima NMP 22 testa, sa najnižom vrednošću od 25% za grupu sa niskim i 83,3% za grupu sa visokim stepenom rizika.

Poređenje distribucije bolesnika u odnosu na nalaze NMP 22 testa u separatnom i izmokrenom urinu dokazuje visokostatistički značajnu direktnu korelaciju, to jest pacijenti sa pozitivnim nalazom NMP 22 u separatnom urinu najčešće imaju i pozitivan NMP 22 u izmokrenom urinu,  $R=0,783, p<0,0001$ . Dobijene vrednosti senzitivnosti, za NMP 22 separatnog urina od 37,5-88,9% i NMP 22 ukupnog urina od 37,5%-83%, kao i specifičnosti od 88% odnosno 92% takođe pokazuju da ispitivanje bilo koja od ova dva uzorka urina ima gotovo identičnu dijagnostičku tačnost, što omogućava poštedu pacijenata od invazivnog uzimanja uzoraka.



### C. Uporedna analiza rezultata kandidata sa rezultatima iz literature

Opšte karakteristike ispitivane grupe odgovarale su u potpunosti karakteristikama ispitivanih grupa ostalih autora (Oosterlinck i sar, 2004). Dobijena senzitivnost i specifičnost NMP 22 testa u separatnom i izmokrenom urinu je nešto niža u odnosu na do sada objavljivane rezultate u literaturi koji se kreću oko 88 i 96 % (Tritcheler i sar, 2007).

Senzitivnost citoloških metoda bila je znatno niža u odnosu na NMP 22, ali je specifičnost citoloških metoda, bilo da se radi o izmokrenom, bilo separatnom, veća u odnosu na NMP 22, što odgovara nalazima iz literature, senzitivnosti NMP22 od 65-78% citologije od 30-54% dok je specifičnost NMP22 bila 40-70% a citologije od 78-99%. (Ponsky i sar, 2001)

Direktna korelacija T stadijuma tumora sa nalazima NMP 22 testa i citologije urina dokazana je u mnogim studijama (Lotan i sar, 2003). U našoj studiji NMP 22 se pokazao kao bolji marker kada su u pitanju niži stadijumi u odnosu na citologiju. U višim stadijumima (T3 i T4) citologija i NMP 22 imaju gotovo identične rezultate.

U zavisnosti od patohistološkog gradusa tumora NMP 22 test se pokazao kao bolji u odnosu na citologiju kako separatnog tako i izmokrenog urina. U svim gradusima, NMP 22 je pokazao veći broj pozitivnih nalaza nego što je slučaj sa citologijom (Shariat i sar 2006).

Posmatrajući rezultate dobijene iz tri grupe pacijenata, podeljene prema nivou rizika, uočava se da najčešće pozitivne rezultate i NMP 22 testa i citologije imaju pacijenti u ispitivanoj grupi sa visokim rizikom. NMP 22 pokazao se kao tačniji pri detekciji tumora niskog i srednjeg rizika u odnosu na citologiju.

Povezanost stadijuma i gradusa tumora kao i nivoa rizika kom pacijent pripada sa rezultatima NMP 22 testa i citologije je direktna i jasno uočljiva a može se objasniti činjenicom da što je veći stadijum i gradus tumora ćelije tumora su atipičnije i lakše se otkrivaju citologijom, odnosno viši je nivo proteina u urinu koji se detektuju NMP 22 testom te se vrednosti senzitivnosti kreću od 15% sa niskim gradusom do otovo 100% u visokom gradusu, odnosno od 17 do 97 % zavisni od T stadijuma oboljenja (VanRhijin i sar, 2005).

Analizom slaganja utvrđeno je da se nalaz NMP 22 u separatnom urinu dobro slaže sa nalazom u izmokrenom. Isto važi i za citološke analize. Obzirom da ispitivanje bilo koja od ova dva uzorka urina ima gotovo identičnu dijagnostičku tačnost, što omogućava poštedu pacijenata od invazivnog uzimanja uzoraka urina kateterizacijom uretera kroz mokraćnu bešiku, a NMP 22



testu daje karakteristiku brzog i jednostavanog testa za detekciju tumora gornjeg urotelijuma, kao i za praćenje pacijenata lečenih konzervativnim hirurškim metodama.

Rezultati pokazuju da kombinacija NMP 22 testa i citologije omogućava veću senzitivnost i specifičnost nego kada se uradi samo jedan od dva navedena testa, što je posebno značajno kod površnih tumora niskog gradusa i omogućava smanjenje učestalosti endoskopskih ispitivanja (Chahal i sar, 2001).

#### D. Objavljeni rezultati koji čine deo teze

Rad u časopisu koji je indeksiran u Current Contents-u

1. M. Jovanovic, I. Soldatovic, A. Janjic, A. Vuksanovic, Z. Dzamic, M. Acimovic, J. Hadzi-Djokic: Diagnostic Value of the Nuclear Matrix Protein 22 Test and Urine Cytology in Upper Tract Urothelial Tumors. Urol Int 2011;87:134-137.

#### E. Zaključak

Doktorska disertacija dr Mirka Jovanovića predstavlja dobro koncipiranu, detaljnu analizu mogućnosti primene NMP 22 testa kao tumorskog markera u dijagnostici tumora gornjeg urotelijuma.

Cilj istraživanja je dobro postavljen sa dobro obrazloženom opravdanošću rada. Metodologija je adekvatna postavljenim ciljevima, jasno objašnjena i može se ponoviti. Dobijeni rezultati proizilaze iz primenjene metodologije, prikazani su jasno i pregledno. Pristup radu je interdisciplinaran, koristeći dobijene kliničke nalaze i njihovo poređenje sa nalazima patohistologije i urincitologije. Sam stil pisanja je vrlo precizan, jasan, dobre terminologije sa pravovremenom i adekvatnom upotrebom stranih reči i izraza. U radu je primenjena pravilna statistička metodologija u poređenju rezultata. Diskusija u potpunosti osvetljava sve aspekte obrađene problematike u tezi i potkrepljena je kako istorijskim tako i savremenim rezultatima istraživanja o sličnom problemu. Zaključci teze proizilaze iz rezultata rada i apsolutno podstiču na dalje istraživanje.

Naučni doprinos iznesenog rada kao i njegova originalnost ogleda se u tome što je tumorski marker NMP 22 prvi put primenjen u dijagnostici tumora gornjeg urotelijuma na ovaj način, i upoređen sa urincitologijom koja već duže vreme ima svoje opravdano mesto u

dijagnostici tumora prelaznog epitela. Rezultati rada ukazuju da se NMP 22 može koristiti u dijagnostici tumora gornjeg urotelijuma a pacijenti poštediti invazivnih dijagostičkih metoda.

Članovi komisije predlažu Naučnom veću Medicinskog fakulteta Univerziteta u Beogradu da prihvati pozitivnu ocenu završene doktorske disertacije dr Mirka Jovanovića i odobri javnu odbranu.

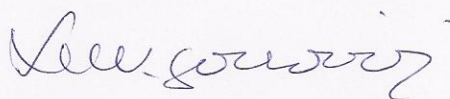
Beograd 07.02.2012.

Mentor



Prof. Dr Jovan Hadži-Djokić

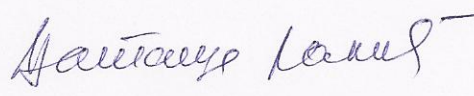
Članovi komisije



Prof.dr Aleksandar Vuksanović



Doc.dr Zoran Džamić



VNS dr Nataša Lalić