

УНИВЕРЗИТЕТ У БАЊОЈ ЛУЦИ
ФАКУЛТЕТ:



ИЗВЈЕШТАЈ *о оцјени урађене докторске дисертације*

І ПОДАЦИ О КОМИСИЈИ

На основу члана 46 Правилника о магистарском студију и докторатима, члана 141, Закона о високом образовању Републике Српске (Службени гласник Републике Српске број 67/20), члана 54. Статута Универзитета у Бања Луци и члана 18, Статута Медицинског факултета Наставно-научно вијеће Медицинског факултета Универзитета у Бањој Луци на VIII редовној сједници одржаној 13.05.2022 године донијело је одлуку под бројем 18/3,426/2022 о именовану комисије за оцјену урађене докторске тезе мр Југослава Ђерија, доктора медицине, под називом "Предиктивни значај васкуларног ендотелног фактора раста и матрикс металопротеиназа у развоју дехисценције ниских колоректалних анастомоза код болесника лијечених неоадјувантном терапијом" у саставу:

- 1) Проф. др Лана Нежић, ванредни професор ужа научна област Фармакологија, Медицински факултет у Бањалуци
- 2) Проф. др Никица Грубор, ванредни професор ужа научна област хирургија, Медицински факултет у Београд
- 3) Проф. др Радован Цвијановић, редовни професор ужа научна област хирургија, Медицински факултет Нови Сад
- 4) Доц. др Саша Јунгић, ужа научна област онкологија, Медицински факултет Бањалука, резервни члан

Након детаљног прегледа урађене докторске тезе кандидата мр Југослава Ђерија, именована комисија Наставно-наставном вијећу Медицинског факултета у Бањој Луци подноси слиједећи извјештај.

II ПОДАЦИ О КАНДИДАТУ

- 1) Југослав (Јожеф) Ђери;
- 2) 18.11.1970. Бања Лука, Република Српска , Босна и Херцеговина;
- 3) Универзитет у Бањој Луци, Медицински факултет, Постдипломски студији, стечено звање магистра медицинских наука;
- 4) Медицински факултет Бања Лука, магистарска теза под називом:
„ЗНАЧАЈ ПРОТЕКТИВНЕ ИЛЕОСТОМЕ КОД НИСКИХ КОЛОРЕКТАЛНИХ АНАСТОМОЗА“ ужа научна област Хирургија 15.04.2017 године;
- 5) Научна област Хирургија;
- 6) Година уписа на докторске студије и назив студијског програма.

III УВОДНИ ДИО ОЦЈЕНЕ ДОКТОРСKE ДИСЕРТАЦИЈЕ

- 1) Наслов докторске дисертације мр Југослава Ђерија је: "Предиктивни значај васкуларног ендотелног фактора раста и матрикс металопротеиназа у развоју дехисценције ниских колоректалних анастомоза код болесника лијечених неoadјувантном терапијом".
- 2) Тема докторске дисертације прихваћена је од стране Научно-наставног вијећа Медицинског факултета Универзитета у Бањој Луци Одлуком број:18/3, 419/2019 од 19.06.2019 године. Сенат Универзитета у Бањој Луци Одлуком број: 02/04-3,1512-34/1719 од 27.06.2019 године дао је сагласност на Извјештај о подобности теме и кандидата за израду докторске дисертације на Медицинском факултету у Бањој Луци, кандидата мр Југослава Ђерија под називом "Предиктивни значај васкуларног ендотелног фактора раста и матрикс металопротеиназа у развоју дехисценције ниских колоректалних анастомоза код болесника лијечених неoadјувантном терапијом"

3) Садржај докторске дисертације је изражен у сљедећим поглављима:

- 3.1) Увод докторске дисертације је написан на 27 страна;
- 3.2) Хипотезе су написане на 1 страни;
- 3.3) Циљеви истраживања су написани на 1 страни;
- 3.4) Поглавље испитаници и методе је написано на 10 страна;
- 3.5) Резултати рада су приказани на 31 страни;
- 3.6) Дискусија је написана на 14 страна;
- 3.7) Закључци су написани на 1 страни;
- 3.8) Литература је написана на 22 стране.

4) Докторска дисертација кандидата мр Југослава Ђерија написана је латиничним писмом, фонтом *Times New Roman* на 110 страна формата А4. На почетку дисертације налази се 9 страна које нису нумерисане, а обухватају наслов дисертације, кључне информације о дисертацији (на српском и енглеском језику), захвалницу, садржај, сажетак (на српском и енглеском језику). Дисертација садржи 24 слике, 24 табеле. У дисертацији су цитирана 194 литературна извора. На крају дисертације се налазе прилози те потписане изјаве о ауторству, изјава којом се овлашћује Универзитет у Бањој Луци да се докторска дисертација учини доступном и изјава о идентичности штампане и електронске верзије докторске дисертације.

Докторска дисертација садржи 8 поглавља, а у сваком су приказани разлози због којег је истраживање подузето, приказани су важност раног откривања и лијечења постоперативних компликација, јер у дањашњој доступној литератури нису у потпуности разјашњени и дефинисани узроци који доводе до њиховог настанка, а то поред научног има и велики социо-економски значај.

У првом поглављу (стр.1-27) описани су узроци настанка и распрострањеност карцинома ректума у свијету, основне дијагностичке методе те модалитети лијечења, само хируршког лијечења или удружено нео- хеморадио терапије и хирургије. Значај постоперативних компликација и основни разлози њиховог настанка. Приказани су предиктивни фактори постоперативних компликација. Матрикс-металопротеиназа (ММП) и васкуларни ендотелни фактор раста (ВЕФР), те велика важност у њиховом раном откривању како би се смањили трошкови лијечења и морталитет.

У другом поглављу (стр. 36) представљене су хипотезеведеног истраживања које указују на утицај нео хеморадиотерапије на настанак дехисценције анастомозе у односу на пацијенте код којих није проведена неoadјувантна хеморадиотерапија, као и утицај неoadјувантне хеморадиотерапије на експресију ММП и ВЕГФ.

У трећем поглављу (стр.37) циљеви истраживања су прецизно постављени како би се детерминисали фактори који су битни за рано верификовање и правилно лијечење дехисценције анастомозе.

У четвртном поглављу (стр. 30-40) представљен је узорак и поступци у раду, протокол истраживања и статистичке методе обраде података.

У петом поглављу (стр. 41-71) су систематично приказани резултати, по фазама истраживања уз тестирање радне хипотезе. Детаљно је приказана инциденца дехисценције колоректалне анастомозе код свих пацијента код којих је примијењена нео хеморадиотерапија и код пацијента код којих није проведена иста те учесталост дехисценције анастомозе код обје групе пацијената. У резултатима је приказана и учесталост других постоперативних компликације (ентероколитис, илеус) код обје групе пацијената. Утврђена је повезаност преоперативно измјерених високих вриједности ММП 2 и ММП9 те вриједности ВЕФР са настанком постоперативних компликација које су праћене у болничким условима и амбулантно. Сlikовно су приказане имунохистохемијске обраде узорака као и степен пребојености туморског и здравог ткива.

У шестом поглављу (стр 72-86) приказана је дискусија о добијеним резултатима истраживања, те њихово поређење са већ постојећим истраживањима као и сличним истраживањима на задату тему. Представљени су и јасно образложени стручни и научни допринос овог истраживања у колоректалној хирургији.

У седмом поглављу (стр 87) кандидат је на јасан и систематичан начин представио сазнања и научне чињенице на основу добијених резултата истраживања и тестирања хипотезе, изнесених у оквиру дисертације.

У осмом поглављу (стр. 88-111) литература је представљена нумерички како је и кориштена у оквиру поменутог истраживања.

IV УВОД И ПРЕГЛЕД ЛИТЕРАТУРЕ

IV 1. Разлог због којег је истраживање предузето, проблем, предмет, циљеви и хипотезе истраживања

Колоректална анастомозе је специфична процедура у дигестивној хирургији како у формирању и зарастању, тако и због настанка компликација. На процес зарастања анастомозе утиче више фактора, као што су системски, локални те хируршки. Дехисценција колоректалне анастомозе је једна од најтежих компликација у хирургији, јер угрожава живот пацијента а често захтијева и хитну хируршку интервенцију, што значајно продужава хоспитализацију и поскупљује лијечење. Увођење предиктивних фактора, којим би се могли преоперативно одредити пацијенти са повећаним ризиком за настанак дехисценције представља велики напредак у хирургији. ММП2, ММП9 и ВЕФР су због своје специфичности веома значајни предиктивни фактори, а њихове високе вриједности у туморском и околном здравом ткиву одређене преоперативно су корелацији са настанком дехисценције колоректалне анастомозе. Значајност је у томе што би се код пацијената са високим вриједностима ММП2, ММП9 и ВЕФР, могле провести одговарајуће преоперативне и интраоперативне процедуре којим би се смањило ризик настанка дехисценције

анастомозе. Кандидат је кроз рад успјешно одговорио на *проблем истраживања* који се односи на утврђивање повезаности високих вриједности предиктивних фактора и настанка дехисценције колоректалне анастомозе, као и на утицај нео хеморадиотерапије на смањење експресије ММП2, ММП9 и ВЕФР. Кандидат је у дисертацији аргументовано и објективно анализирао *предмет истраживања* који се односи на могућност избора ММП2, ММП9 и ВЕФР као предиктивних фактора у процјени превенцији настанка дехисценције колоректалне анастомозе.

Научни циљ истраживања је стицање сазнања о наведеном проблему истраживања на бази релевантне грађе, што је кандидат урадио детаљним описима до сада изведених истраживања предиктивних фактора и настанка дехисценције колоректалне анастомозе, из чега су произашли *циљеви докторске дисертације*:

1. Испитати учесталост појаве дехисценције колоректалне анастомозе и других раних постоперативних компликација као што су ентероколитиси и постоперативни илеус код пацијената оперисаних због ниске локализације карцинома ректума, лијечених са или без неoadјувантне радиотерапије.

2. Испитати ткивну експресију васкуларног ендотелног фактора раста (ВЕГФ) и матрикс-металопротеиназа 2 и 9 (ММП 2 и ММП 9) у биоптираном зиду анастомозе ректума и биоптираном туморском ткиву код пацијената подвргнутих оперативном лијечењу карцинома ректума са и без неoadјувантне хеморадиотерапије у односу на појаву дехисценције анастомозе и других компликација.

3. Испитати корелацију неoadјувантне радиотерапије и експресије ВЕГФ, ММП-2 и ММП 9 у биоптираном зиду здраве слузнице ректума и биоптираном туморском ткиву код пацијената са карциномом ректума у односу на појаву дехисценције анастомозе.

На основу проблема, предмета и циљева истраживања постављене су *хипотезе истраживања*:

1. Неoadјувантна радиотерапија не утиче на чешћу појаву дехисценције и раних компликација код пацијената код којих је проведена радиотерапија у односу на пацијенте код којих је проведен само хируршки третман.

2. Неoadјувантна радиотерапија ће довести до смањења експресије ВЕГФ и ММП-2 и ММП-9 код пацијената који ће бити подвргнути неoadјувантној радиотерапији и тако довести до регресије тумора.

3. Висока експресија ВЕГФ и ММП2 и ММП9 у туморском ткиву и у околном здравом ткиву ће бити у корелацији са већим бројем постоперативних компликација код пацијената оперисаних због карцинома ректума, као што су дехисценција анастомозе, ентероколитиси, појава постоперативног илеуса.

IV 2. Преглед претходних истраживања

Карциноми ректума се налазе на трећем мјесту по учесталости код особа оба пола и то одмах иза карцинома плућа и карцинома дојке код жена, односно карцинома простате код мушкараца [1].

Лијечење карцинома ректума се промјенило у посљедних двадесет година, и то дијелом због развоја хирургије а дијелом због преласка са адјувантне на неoadјувантну радиотерапију [2].

Постоперативне компликације на ректуму чешће него на осталим дијеловим колона и оне угрожавају живот болесника, а веома често захтијевају и хитну операцију, уз продужено, сложено и веома скупо лијечење [3].

Једна од главних постоперативних компликација је попуштање новоформиране колоректалне анастомозе односно дехисценција анастомозе [4].

Учесталост компликација у хирургији ректума је присутна у просјеку између 1.8 и 12.8 %, док дехисценције анастомозе обухватау 1.8 до 10.4% од укупних компликација [5].

Сложеност лијечења које подразумева хируршки, радиотерапијски и фармаколошки начин лијечења карцинома ректума, додатно је усложњена са чешћим постоперативним компликацијама. Процјена ризика настанка постоперативних компликација се заснива на постоперативном клиничком стању и коморбидитетима, радиолошким испитивањима, патохистолошком анализом туморског ткива, али врло ријетко биомаркера ћелијског раста и пролиферације биоптираног туморског ткива или зида ректума.

Матрикс металопроотеиназе су групе ензима које су одговорне за разградњу већине екстрацелуларних протеина током органогенезе. Експресија и активност MMP у ткиву одраслих су нормално сасвим ниски, али се значајно повећавају у одређеним патолошким стањима, прије свега у инфламаторним болестима те код пацијената са тумором и метастазама [6]. MMP су контролисани инхибиторима металопроотеиназа и они се налазе у омјеру 1:1. Ова равнотежа је веома битна за физиолошке процесе у цријевима, и њихова неравнотежа је почетни корак ка настанку малигнитета [7]. Неконтролисана активност MMP доводи до оштећења ткива и функционалних измјена које воде ка прогресији тумора и настанку метастаза [8]. Herszenyi и аутори су својој студији показали да је експресија MMP 9 значајно већа код умјерених и лоше диферентованих тумора него код добро диферентованих тумора. Дубина инвазије колоректалног карцинома у зид цријева је била у позитивној корелацији са степеном експресије MMP. Такође, у корелацији са степеном експресије MMP су биле метастазе лимфних чворова и удаљене метастазе [9]. Анализе су показале да је присуство MMP9 и MMP2 у ткиву показатељ лоше прогнозе обољења, кратког времена преживљавања и настанка компликација. С друге стране, могу бити корисни прогностички маркери и предиктори метастаза у јетри [10]. Неколико студија је потврдило да висок ниво MMP9 и MMP2 у серуму и плазми веома значајан прогностички фактор за пацијенте са колоректалним карциномом. Ниво MMP9 и MMP2 у серуму и плазми се користи за идентификацију пацијената са повећаним ризиком од настанка поновног тумора [11]. У пилот студији, Пастернак и сар. су измјерили повишен ниво MMP у постоперативној интраперитонеалној течности након операције карцинома ректума. Повишени нивои MMP-2 и MMP-9 били су маркери за каснији развој дехисценције шави након операције [12].

Крајем шездесетих година прошлог вијека Greenblatt и Shubik су дали прве доказе да је туморска ангиогенеза узрокована неким факторима које продукује сам тумор [13]. Томида и други истраживачи изоловали су протеин-стимулатор ендотелних ћелија назван, васкуларни ендотелни фактор раста (VEGF) [14].

Keshet и сарадници потврдили су да се највећа експресија VEGF-а налази у хипоксичној зони тумора, чиме су указали на хипоксију као главни окидач експресије VEGF-а. Неоангиогенеза је формирање нове мреже капилара и венула под утицајем самог тумора [15]. Физиолошка улога VEGF-а се одражава на регулацију ангиогенезе и лимфангиогенезе. Код одраслих има улогу у зарастању рана и оштећених ткива, на репродуктивне функције код жена, стимулишући раст и развој васкуларне ендотелне ћелије [16]. VEGF обухвата групу од 6 структурно различитих протеина који регулишу раст и диферентовање васкуларног система. Њихов ангиогенетски ефекат настаје примарно интеракцијом VEGF и VEGF рецептора [17]. Постоји више различитих VEGF лиганди и то А,Б,Ц,Д и Е, а они имају различите афинитете према рецепторима. У сложенем процесу надвладавања проангиогених и антиангиогених фактора, долази до ангиогеног окидача, који за посљедицу има повећање продукције VEGF-а.

Туморски-VEGF стимулише туморску ангиогенезу, која је основ за туморски раст. Да би тумор достигао раст између 1-2 mm у пречнику неопходно је формирање нове васкуларне мреже. У раној фази развоја тумора појачана је експресија VEGF-а за подршку и стимулацију неоангиогенезе, док су у узрапредовалој фази укључени и други фактори раста. Неповољан ефекат VEGF-а је што може инхибисати антитуморски имунолошки одговор. Због туморске ангиогенезе долази до стварања нове васкуларне мреже са пропустљивим и дезорганизованим крвним судовима са хаотичним протоком крви што доводи до слабије расположивости хемотерапеутицима [18,19]. Лау и аутори су у својој студији утврдили да је васкуларни ендотелни фактор раста (ВЕГЕ) један од најмоћнијих митогена ендотелних ћелија и он се сматра једним од најјачих фактора ангиогенезе. ВЕГФ је веома важан за инвазију и метастазирање неоплазми кроз стварање нових крвних жила из зрелих ендотелних ћелија. Ова студија је показала да се вриједности ВЕГФ могу користити за предвиђање клиничког исхода карцинома ректума као настанка постоперативних компликација. [20]. Такође, Гиампиери и аутори су у својој студији утврди постојање повишених вриједности ВЕГФ код болесника са карциномом ректума а које је повезано са агресивнијим ширењем и лошијом прогнозом. У студији су утврдили да је повезаност нивоа експресије ВЕГФ и повећане густоће крвних судова у туморима у корелацији са узрапредовалим стадијумом колоректалног карцинома, лошом прогнозом, краћим преживљавањем и већом вјероватноћом, настанка постоперативних компликација [21].

Литература цитирана у IV 2

1. Jemal A, Siegel R, Ward E, et al. Cancer statistics. CA Cancer J Clin 2008;58:71-96.
2. Watson AJ, Collins PD. Colon cancer: a civilization disorder. Dig Dis 2011;29(2):222-228.
3. Chan D, Lau R, Aune D, Vieira R, Greenwood DC, Kampman E and Norat T. Red processed meat and colorectal cancer incidence: meta-analysis of prospective studies. 2011;6(6):e20456

4. Rijcken E., Sachs L., Fuchs T., Spiegel H.U., Neumann P.A. Growth factors and gastrointestinal anastomotic healing. *J. Surg. Res.* 2014;187:202–210.
5. Hammond J, Lim S, Wan Y, et al. The burden of gastrointestinal anastomotic leaks: an evaluation of clinical and economic outcomes. *J Gastrointest Surg* 2014;18:1176–1185.
6. Lakatos G, Hritz I, Varga M.Z, Juhász M, Miheller P, Cierny G. The impact of matrix metalloproteinases and their tissue inhibitors in inflammatory bowel diseases. *Dig. Dis.* 2012;30:289–295.
7. Han Kee JY, Kim DS, Mun JG, Park SH, Kim YJ, Um JY, Hong SH: Arctii fructus inhibits colorectal cancer cell proliferation and MMPs mediated invasion via AMPK. *Am J Chin Med.* 2017;45(6):1309-316
8. Jensen S.A, Vainer B, Bartels A, Brünner M, Sørensen J.B: Expression of matrix-metalloproteinase 9 (MMP-9) and tissue inhibitor of metalloproteinase 1 (TIMP-1) by colorectal cancer cells and adjacent stroma cells-Associations with histopathology and patients outcome. *Eur. J. Cancer.* 2010; 46:3233–3242.
9. Chu D, Zhao Z, Li Y, Zheng J, Zhao Q, Wang W: Matrix metalloproteinase-9 is associated with relapse and prognosis of patients with colorectal cancer. *Ann. Surg. Oncol.* 2012;19:318–325.
10. Dragutinovic V.V, Radonjic N.V, Petrijevic N.D, Tatic S.B, Dimitrijevic I.B, Radovanovic N.S, Krivokapic Z.V: Matrix metalloproteinase-2 (MMP-2) and -9 (MMP-9) in preoperative serum as independent prognostic markers in patients with colorectal cancer. *Mol. Cell Biochem.* 2011;355:173–178.
11. Pasternak B, Matthiessen P, Jansson K, Andersson M, Aspenberg P: Elevated intraperitoneal matrix-metalloproteinases-8 and -9 in patients who develop anastomotic leakage after rectal cancer surgery:A pilot study. *Colorectal Dis.* 2010;12:93–8.
12. Caporarello N, Lupo G, Olivieri M, Cristaldi M, Cambria MT, Salmeri M, Anfuso CD: Classical VEGF, Notch and Ang signalling in cancer angiogenesis, alternative approaches and future directions (Review). *Mol Med Rep.* 2017 ;164-71.
13. Nagano H, Yamagishi N, Uchida T, Ohno A, Hirasaka K, Nikawa T, Teshima-Kondo, Tomida S.J: Regorafenib induces adaptive resistance of colorectal cancer cells via inhibition of vascular endothelial growth factor receptor. *Med Invest.* 2017;64:262-265

14. Lan J, Li H, Luo X, Hu J, Wang G: BRG1 promotes VEGF-A expression and angiogenesis in human colorectal cancer cells. *Exp Cell Res.* 2017;827-36.
15. Ferrara N, Geber H.P., LeCouter J: The biology of VEGF and receptors. *Nature Med.* 2003;9:669-761.
16. Ferrara N : Vascular endothelial growth factor: basic science and clinical progress *Endocr.Rev* 2004; 25(4) :581-611.
17. Divella R, Daniele A, DE Luca R, Simone M, Naglieri E, Savino E at all: Circulating levels of VEGF and CXCL1 are predictive of metastatic organotropism in patients with colorectal cancer. *Anticancer Res.* 2017;37(9):4867-4871
18. Glynne-Jones R, Harrison M, Locally advanced rectal cancer: What is the evidence for induction chemoradiation. *Oncologist.* 2007;12:1309-18.
19. Jeffrey G, Kuremsky, B.A, Joel E. Tepper, M.D., and Howard L. McLeod, Pharm D: Biomarkers for response to neoadjuvant chemoradiation for rectal cancer. *Int J radiation Oncology Biol. Phys.* 2009;74(3):673-88.
20. Lau TP, Roslani AC, Lian LH, Lee PC, Hilmi I, Goh KL, Chua KH. Association between EGF and VEGF functional polymorphisms and sporadic colorectal cancer in the Malaysian population. *Genet Mol Res.* 2014;13:5555-5561.
21. Giampieri R, Salvatore L, Del Prete M, Prochilo T, D'Anzeo M, Loretelli C, Loupakis F, Aprile G, Maccaroni E, Andrikou K, et al. Angiogenesis genotyping and clinical outcome during regorafenib treatment in metastatic colorectal cancer patients. *Sci Rep.* 2016;6:25195.

IV 3. Допринос тезе у рјешавању изучаваног предмета истраживања

С обзиром да је дехисценција колоректалне анастомозе једна од најтежих компликација у колоректалној хирургији, које значајно продужава и поскупљује лијечење пацијента а може довести и до смртног исхода, детекција пацијената са повећаним ризиком од настанка дехисценције анастомозе дала би велики допринос у лијечењу и опоравку пацијената у колоректалној хирургији. На подручју Републике Српске и Босне и Херцеговине, али и у читавом региону нису постојала истраживања која су везани за утврђивање предиктора ММП и ВЕФР којим би се преоперативно верификовали пацијенти код којих постоји већи ризик за настанак дехисценце колоректалне анастомозе. Ово би свакако представљало један нови приступ а који би имао велики значај за здравствени систем Републике Српске

IV 4.Очекивани научни и прагматични доприноси дисертације.

У доступној литератури на интернационалном нивоу постоје радови који су истраживали предикторе за настанак постоперативних компликација у колоректалној хирургији а прије свега дехисценције колоректалне анастомозе, али није било радова који су истраживали предиктивни значај ММП 2, ММП9 и ВЕФР.

Управо због тога, у овој дисертацији мр Југослав Ђери је дао значајан *научни допринос* у истраживању и ширењу знања везаних за настанак дехисценције колоректалне анастомозе, њиховој превенцији и лијечењу. Прагматичан допринос дисертације подразумева подизање свијести љекара о важности детекције пацијената са већим ризиком од настанка дехисценције, те раном дијагностиковању и лијечењу истих како би се скратило лијечење и постигао већи економски значај.

V МАТЕРИЈАЛ И МЕТОД РАДА

V 1. Материјал и критеријуми

Ради се о проспективној, опсервационој студији, са двије кохорте, са укупно 60 пацијената, старости од 50 до 75 година, код којих је стандардним дијагностичким методама био ендоскопски откривен и патохистолошки потврђен аденокарцином ректума стадијума Т2 и Т3. Истраживање је проведено на Клиници за општу и абдоминалну хирургију, Клиници за онкологију, Заводу за патологију и Заводу за радиотерапију Универзитетског Клиничког центра Републике Српске (УКЦ РС) у периоду од 1. јануара 2018. до 31. септембра 2021, зависно од времена потребног за формирање кохорти.

Критеријуми за укључивање у студију:

- Хистопатолошки потврђен аденокарцином ректума,
- Пацијенти старосне доби од 50 до 75 године,
- Пацијенти код којих је изведена радикална операција са креирањем стаплерске анастомозе,
- Болесници с АСА скором 1-3,
- Примијењена неoadјуватна терапија по принципу дуготрајног режима хеморадиотерапије за половину посматраних пацијената

Критеријуми за искључивање из студије:

- Нересектабилни тумори или постојање метастаза
- Пацијенти код којих је урађена радикална операција која подразумијева ампутацију ректума
- Пацијенти код којих је креирана ручна анастомоза
- Тумори који нису хистопатолошки потврђени као аденокарциноми

V 2. Кратак увид у примјењени метод истраживања

Сви пацијенти обухваћени у студији су били подијељени у двије групе.

Кохорту 1 је чинило 32 пацијената са аденокарциномом ректума, код којих се прије оперативног захвата проводила неoadјувантна радиотерапија ректума захваћеног тумором.

Кохорту 2 је чинило 30 пацијената са аденокарциномом ректума, који су бити подвргнути само оперативном захвату, ресекцији ректума са колоректалном анастомозом.

Подаци о пацијентима добијени су из медицинске документације, клиничког, радиолошког и лабораторијског прегледа:

•медицинска документација: пол, године, основна болест, коморбидитети, стадијум тумора, лијекови које тренутно користе

•патохистолошки налаз : врста тумора , стадиј тумора , ширење кроз слојеве зида колоне, ширење на лимфне чворове и околно ткиво.

•лабораторијски налази: хематолошке и биохемијске анализе

Свим пацијентима је преоперативно урађен клинички преглед, те потом ендоскопски преглед са биопсијом и патохистолошком верификацијом узорка. Код свих пацијената којима је планирана неoadјувантна радиохемотерапија као и оним којима је планиран оперативни захват из биоптата тумора и околног здравог ткива зида дебелог пријева рађена је патохистолошка анализа и експресија ВЕФР те ММП 2 и ММП 9. Свим пацијентима су урађени лабораторијски и биохемијски налази, налази туморских маркера (Ca 19-9, AFP, СЕА), а потом КТ абдомена и мале карлице.

Сви пацијенти са потврђеним карциномом ректума прегледани су од стране онколога и потом упућени на онколошки конзилијум за малигне болести дигестивног тракта гдје су донесени модалитети о даљем лијечењу.

Пацијенти код којих је планирано хируршко лијечење прегледани су од стране анестезиолога те им је одређен АСА скор (American Society Anesthesiologists) и одрађен оперативни захват.

Пацијенти којима је одређена неoadјувантна терапија, проводила се по типу дуготрајног режима хеморадиотерапије, а потом се 6 до 8 недеља након проведене терапије обављала хируршка интервенција. Код пацијената код којих је верификована дехисценце анастомозе, на основу општег стања доносила се одлука о даљим модалитетима лијечења .

Код пацијената код којих је опште стање било стабилно без пораста упалних параметара проводио се конзервативни третман, док је код пацијената са знацима погоршања општег стања и симптомима септичког стања било потребно урадити хируршко збрињавање дехисценце креирањем биполарне стоме или операције по Хартману. Ране постоперативне компликације су се пратиле у току хоспитализације као и по отпуштању пацијента из болнице у периоду трајања од 3 мјесеца. Праћење пацијената и верификовање раних постоперативних компликација по отпуштању на кућни третман вршило се кроз редовне контроле које су се проводиле током првих 3 мјесеца наконведеног оперативног захвата. За верификовање компликација користили су се клинички преглед, налази ККС, упалних параметара, УЗ абдомена и мале карлице те колоноскопија. Имунохистохемијска обрада узорака урађена је у Заводу за патологију по стандардним методама имунохистохемијске анализе а интензитет имунохистохемијских реакција ММП-9, ММП2 И ВЕФР процјењен је према слиједећим параметрима: одсуство смеђих гранула у ћелијској цитоплазми -0, присуство малих смеђих гранула у цитоплазми 10%– 1, дистрибуција смеђих великих гранула у појединачним ћелијама од 10 до 50% – 2, присуство великих смеђих гранула у цитоплазми већине ћелија преко 50% -3, Позитивне флеке су дефинисане као браон-жуте честице или тан-браон честице у цитоплазми (увечање; $\times 100$). Све методе истраживања кориштена у испитивању су адекватне, довољно тачне и савремене имајући у виду достигнућа у овој области истраживања.

Није било промјена у односу на план истраживања који је дат прилоком пријаве докторске тезе.

Сви испитивани параметри дају довољно елемената који чине ово истраживање квалитетним и није требало додатних испитивања за поузданост истраживања.

Статистичка обрада података је била адекватна.

Резултати су били анализирани и представљени кориштењем дескриптивне статистике и стандардним статистичким методама и рачунарским програмом за статистичку анализу SPSS софтвер (верзија 18.0; SPSS, Inc., Chicago, IL, USA) на основу којих су донесени конкретни закључци у складу са постављеним хипотезама и циљевима истраживања. По потреби, основне карактеристике испитаника су поређене *Student t*-тестом или *Mann-Whitney-ovim*. У тестом за континуиране варијабле, а *Fischer-ovim* егзактним тестом за категоријске варијабле. За одређивање независних предиктора кориштена је униваријантна *Cox-ova* пропорционална хазардна регресиона анализа. Сви подаци су обрађени уз степен статистичке значајности од 95%

Криве карактеристике пријемника дизајниране су да процене дијагностичку и прогностичку вредност ММП9, ММП2 И ВЕФР у ткивима, у смислу осјетљивости, специфичности, позитивне предиктивне вриједности (ППВ) и негативне предиктивне вриједности (НПВ). Оптималне просјечне вриједности ткива ММП-9, ММП2 и ВЕФР идентификоване су према *Wilcoxonovim* тестом. Стаистичка повезаност дехисценце са дијабетес мелитусом (ДМ) утврђивана је на основу *Kruskal-Wallis* (K-W) тест. $p > 0,05$. Такође, статистичка повезаност дехисценце БМИ утврђена је *Kruskal Wallis* (K-W) тест 0,6899. Сви резултати су приказани табеларно и графички.

Анализирајући обрађени материјал, описане методе истраживања, комисија констатује да су примјењене методе адекватне, а испитивани параметри довољно обрађени и објективно тумачени.

VI РЕЗУЛТАТИ И НАУЧНИ ДОПРИНОС ИСТРАЖИВАЊА

VI 1. Резултати истраживања

Добијени резултати ове докторске дисертације су приказани на 30 страница у дијелу резултати и још 16 страница у дијелу дискусија. Резултати истраживања показала су да је постојала статистички значајна већа учесталост дехисценце анастомозе код пацијената са дијабетесом мелитусом како у кохорти пацијената који нису били подвргнути нео хеморадиотерапији тако и у кохорти која је имала нео хеморадиотерапију са статистичком значајности $p < 0,05$. Такође, резултати су показали да је код пацијената са БМИ већим од 25 постојала већа учесталост за настанак дехисценције колоректалне анастомозе у односу на пацијенте са вриједностима БМИ 19-25 и са БМИ мањим од 19, гдје је постојала статистичка значајност $p < 0,05$. Резултати овог истраживања показали су да није било статистичке разлике у настанку дехисценције анастомозе код пацијената код којих је прије оперативног захвата проведена нео хеморадиотерапија, у односу на пацијенте код којих је проведено само оперативни захват. Код пацијената код којих је проведена кура нео хеморадиотерапије ипак су имали већу учесталост постоперативних ентероколитиса који су се јављали 30 до 40 дана после проведеног оперативног захвата, у односу на пацијенте код којих је проведено само оперативно лијечење. Резултати су код обе групе испитаника је такође потврдили да је у биоптираном материјалу туморског ткива те у здравом ткиву са мјеста планиране анастомозе постојала већа статистичка вјероватноћа настанка дехисценције анастомозе у свим случајевима када су вриједности ММП 2 и ММП9 биле високе. Такође резултати истраживања су утврдили да је код пацијената код којих су вриједности ВЕФР у биоптираном ткиву тумора и здравом ткиву постојала је већа статистичка учесталост дехисценције анастомозе. На основу добијених резултата показало се да су сви случајеви дехисценције анастомозе наступили код пацијентата који су у биоптираном ткиву имали експресију ММП2, ММП9 и ВЕФР градус 3. Резултати истраживања су показали да је у кохорти код којих је проведена нео хемотерапија, 59% пацијената имало степен дистрибуције ММП2 градус 2, док је 54.9% пацијената

имало степен дистрибуције ММП9. Такође код 62.5% пацијената постојала је дистрибуција ВЕФФ градус 2.

Истраживања ове студије су показала да је и у кохорти код пацијената код којих није пороведена нео хеморадиотерапија, 60% пацијената имало дистрибуцију ММП2 градус 2, 50% пацијената је имало дистрибуцију ММП9 такође градус 2. А код 53,5% пацијената била је дистрибуција ВЕФФ градус 2. Код пацијената код којих је проведена нео хеморадиотерапија утврђено је да је после проведене терапије дошло до смањења експресије вриједности ММП2, ММП9 те вриједности ВЕФФ код свих пацијената, како са градуса 3 прије нео хеморадиотерапије на градус 2 и градус 1 после проведене терапије, тако и са градуса 2 прије проведене нео хеморадиотерапије на градус 1 после терапије. Такође и код пацијената са градусом 1 прије хемотерапије, дошло је до смањења експресије на градус 0 после проведене нео хемотерапије.

Резултати истраживања у овој судији потврдили су да је у кохорти пацијената који нису имали нео хеморадиотерапију постојала умјерено позитивна корелација настанка дехисценције и високих вриједности ММП2, ММП9 и ВЕФФ, Такође резултати су показали да је и у кохорти код којих је проведена нео хеморадиотерапије постојала умјерено позитивна корелација дехисценције и високих вриједности ММП2, ММП9 и ВЕФФ. Истраживање је утврдило да није постојала статистички значајна повезаност реинтервенција између пацијената у испитиване двије кохорте.

VI 2. Критичност и коректност тумачења резултата

Резултати истраживања су приказани на прегледан начин. Они су јасно и објективно тумачени а кандидат је показао објективан и критичан став у процјени резултата, посебно у дијелу који се односи на компарацију са резултатима сличних истраживања. Дискусија добијених резултата показује да је кандидат способан да прикупи, обради, и презентује резултате на врло прегледан начин, као и да на јасан и свеобухватан начин разматра приказане резултате и успореди их са литературним подацима.

VI 3. Теоретски и практични допринос дисертације и нови истраживачки задаци

Основни теоретски допринос дисертације је сљедећи:

Ова дисертација проширује постојећа знања о постоперативним компликацијама у колоректалној хирургији, а посебно у односу на дехисценције колоректалне анастомозе која је једна од најтежих компликација у дигестивној хирургији. Велики допринос огледа се у томе што би се преоперативном верификацијом експресије ММП2, ММП9 и ВЕФФ у биоптираном туморском ткиву, могли маркирати пацијенти код којих постоји већа вјероватоћа за лошију прогнозу болести, краће преживљавање али и пацијенти са већом вјероватноћом настанка дехисценције колоректалне

анастомозе али и других постоперативних компликација, а које би се онда адекватним методама могли превенирати.

Основни практични допринос дисертације је следећи

Ова докторска дисертација својим предметом и проблематиком истраживања указује на могућност кориштења експресије ММП2, ММП9 и ВЕФР у биоптираном туморском ткиву ректума, за процјену ризика за настанак дехисценције колоректалне анастомозе. На тај начин би се могла смањити инциденца настанка постоперативних компликација у колоректалној хирургији и правовремено примјенити одговарајуће превентивне и терапијске мјере што би поред медицинског имало и велико економски значај.

Основни правци даљих истраживања

Резултати ове дисертације дају одговоре на постављени проблем истраживања, али указују и на напредне правце истраживања. Свакако ће даљи правци истраживања бити усмјерени на побољшавање превенције настанка дехисценције колоректалне анастомозе и других компликација у колоректалној хирургији. На основу протокола истраживања који је кориштен у овој дисертацији могло би се радити на изради водича у превенцији постоперативних компликација у колоректалној хирургији.

VII ЗАКЉУЧАК И ПРИЈЕДЛОГ

Докторска дисертација кандидата мр Југослава Ђерија под називом "Предиктивни значај васкуларног ендотелног фактора раста и матрикс металопроотеиназа у развоју дехисценције ниских колоректалних анастомоза код болесника лијечених неоадјувантном теапијом" урађена је у складу са образложењем које је кандидат приложио приликом пријаве теме. Докторска дисертација урађена је према правилима и принципима научно-истраживачког рада и резултат је оргиналног научног рада кандидата. Резултати истраживања јасно намећу да вриједности ММП2, ММП9 и ВЕФР у тумору и околном здравом ткиву, имају значајану улогу у предвиђању настанка дехисценције колоректалне анастомозе.

Поред тога, кандидат је прецизно и логички анализирао предложену тему истраживања и довео податке у везу са постављеном хипотезом. Такође, кандидат је тему ове дисертације, кроз јасно и концизно писање учинио интересантном и корисном и за истраживаче и за практичаре. Дисертација представља оригинални допринос хирургији и медицинској науци, јер проширује постојећа знања о превенцији настанка дехисценције колоректалне анастомозе и других компликација у колоректалној хирургији.

Чланови комисије, на основу укупне оцјене докторске дисертације једногласно дају позитивну оцјену о завршеној докторској дисертацији под називом "Предиктивни значај васкуларног ендотелног фактора раста и матрикс металопротеиназа у развоју дехисценције ниских колоректалних анастомоза код болесника лијечених неoadјувантном терапијом" мр Југослава Ђерија и предлаже члановима Наставно-научног вијећа Медицинског факултета Универзитета у Бањој Луци и Сенату Универзитета у Бањој Луци да прихвате овај извјештај и омогуће кандидату да своју докторску дисертацију јавно брани.

ПОТПИС ЧЛАНОВА КОМИСИЈЕ

Датум: 30.5.2022.

1) Проф. др Лана Нежић ванредни Професор ужа научна област Фармакологија,
Медицински факултет Универзитета у Бањој Луци, коментор и предсједник

2) Проф. др Никица Грубор, ванредни Професор ужа научна област Хирургија
Медицински факултет Универзитета у Београду ментор и члан

3) Проф. др Радован Цвијановић, редовни Професор ужа научна област Хирургија
Медицински факултет Универзитета у Новом Саду, члан

4) Доц. др Саша Јунгић ужа научна област Онкологија
Медицински факултет Универзитета у Бањој Луци, резервни члан

ИЗДВОЈЕНО МИШЉЕЊЕ: Члан комисије који не жели да потпише извјештај јер се не слаже са мишљењем већине чланова комисије, дужан је да унесе у извјештај образложење, односно разлог због којих не жели да потпише извјештај.