

Одлуком Наставно-научног вијећа Медицинског факултета, Универзитета у Источном Сарајеву, број 01-3-199 од 15.05.2024 године, именована је Комисија за оцјену и одбрану урађене докторске дисертације кандидата Игора Гаврића под насловом "Повезаност промјенљивих фактора ризика и полиморфизама TP53, APC и KRAS гена са настанком колоректалног карцинома" (у даљем тексту: Комисија¹) у сљедећем саставу:

1. Проф. др Зоран Радовановић, редовни професор, ужа научна област Хирургија, Универзитет у Новом Саду, предсједник комисије
2. Проф. др Милан Кулић, редовни професор, ужа научна област Хумана генетика, Универзитет у Источном Сарајеву, члан комисије
3. Доц. др Раде Милетић, доцент, ужа научна област Хирургија, Универзитет у Источном Сарајеву, члан комисије
4. Доц. др Хелена Марић-Кујунџић, ужа научна област Хирургија, Универзитет у Источном Сарајеву, члан комисије
5. Доц. др Јелена Владичић Машић, ужа научна област Онологија, Универзитет у Источном Сарајеву, члан комисије.

Комисија прегледала је и оцијенила докторску дисертацију и о томе подноси Наставно-научном вијећу Медицинског факултета, Универзитета у Источном Сарајеву, сљедећи

ИЗВЈЕШТАЈ **о оцјени урађене докторске дисертације**

1. Значај и допринос докторске дисертације са становишта актуелног стања у одређеној научној области
Урађена докторска дисертација којом је испитивана повезаност промјенљивих фактора ризика и полиморфизама TP53, APC и KRAS гена са настанком колоректалног карцинома представља значајно истраживање на подручју колоректалног карцинома (КРК). Наиме, КРК представља велики социо-епидемиолошки проблем у свијету који је значајан узрок морбидитета и морталитета. Према подацима интернационалне агенције за истраживање КРК (енгл. <i>Интернационал Агенцу фор Ресеарч он Цанцер</i> , ГЛОБОЦАН), КРК је трећи по учесталости код мушкараца (746.000 случајева, 10.0% од укупног броја), а други код жена (614.000 случајева, 9,2% од укупног броја) у свјетској популацији. У овој докторској дисертацији испитивана је повезаност фактора ризика за настанак КРК који су превентабилни и на које се може утицати са полиморфизмима TP53, APC и KRAS гена. Промјенљиви фактори ризика, који се могу превенирати, су: неумјерена исхрана, гојазност, дијабетес, физичка неактивност, алкохол и пушење. Истраживања су показала да се мутације TP53, APC и KRAS гена јављају често код пацијената са КРК и да доводе до малигне трансформације ћелија. Међутим, поред мутација које погађају „канцерске“ гене циљног ткива и које су непосредно одговорне за процес малигне трансформације ћелије, задњих година пажњу истраживача све више заокупљују и посљедице мутације гена, а то су наследне (герминативне) промјене које су дио генетичке конституције сваког појединца и представљају погодан тло за штетно дјеловање спољашњих фактора, а у питању су ДНК полиморфизми. ДНК полиморфизми су варијације наследне основе

(нуклеотидна разноликост), а дефинишу се као однос броја различитих база према укупном броју базних парова генома који се пореде. Иако је познато да се полиморфизми онкогена и тумор супресорских гена (*TP53*, *APC* и *KRAS* гена) јављају често код пацијената са КРК, није познато колики фактор ризика представља свака од њих појединачно, а колико њихова комбинација у настанку КРК, као нити корелација полиморфизама ових гена са осталим факторима који су повезани са настанком КРК. Резултати ове докторске дисертације разрешавају молекуларне механизме којима полиморфизам гена утиче на тежину тј. стадијум колоректалног карцинома. Такође, идентификовани промјенљиви и непромјенљиви (генетски) фактори ризика нам помажу као прогностички фактор код пацијената са овим обољењем и дијагностички фактор у раном откривању колоректалног карцинома. Познато је да је рано откривање овог обољења праћено високом стопом излечења, али скрининг карцинома дебелог цријева није распрострањено примијењен у популацији, као скрининг карцинома дојке и карцином грлића материце. Такође, идентификовањем генетских фактора повезаних са настанком КРК и њиховом комбинованом анализом са промјенљивим факторима дошло се до података који су пацијенти највише изложени ризику за добијање КРК. На основу утврђених значајних фактора повезаних са настанком КРК утврђени су обрасци који би могли помоћи у издвајању особа са повећаним ризиком за настанак КРК, што би могло омогућити спровођење адекватних превентивних мјера на ризичној популацији.

2. Оцјена да је урађена докторска дисертација резултат оригиналног научног рада кандидата у одговарајућој научној области

Урађена докторска дисертација представља оригинално научно дјело, а кандидат је одабрао оригинални приступ у истраживању. Кандидат је истраживање спровео по типу експлоративне проспективне студије случајева и контрола у Универзитетској болници Фоча, Република Српска, Босна и Херцеговина и у Институту за онкологију Војводине Сремска Каменица, Србија током 2019. и 2020. године. Испитаници су били подијељени на групу од 100 случајева (обољелих од КРК) и групу од 100 контролних здравих испитаника. У истраживању је коришћен социо-демографски упитник, као и специјално дизајниран упитник којим су испитиване дијететске навике и стил живота испитаника, са посебним освртом на врсте намирница, количине и њихову учесталост конзумирања у периоду од последњих 10 година. Код свих испитаника урађене су рутинске лабораторијске анализе (комплетна крвна слика) и општи биохемијски налази, и у обе групе испитаника урађени су туморски биомаркери *CEA* и *CA 19-9*. Такође, анализирани су и ендоскопске (локализација тумора) и патохистолошке карактеристике тумора (хистолошки тип тумора, величина тумора, *TNM* стадијум болест, дубина инвазије тумора, хистолошки градус, присуство метастатских промјена, број метастаза и њихова локализација, присуство полипа, њихова локализација, величина, хистологија и број полипа). Док су заједнички алели појединачног нуклеотидног полиморфизма (engl. single nucleotide polymorphism, *SNP*) за *TP53* ген *Arg72Pro* (*rs1042522*) варијанту, *APC* ген *rs459552* варијанту и *KRAS* ген *rs8720* варијанту су амплифицирани техником ланчане полимеризације (engl. polymerase chain reaction, *PCR*). Резултати истраживања су показали да су пацијенти са КРК су значајно чешће били носиоци *TP53* (*Arg72Pro*) *Pro/Pro* генотипа у односу на контролне испитанике, а носиоци *TP53 Pro/Pro* генотипа имали су 2,8 пута већу шансу да развију КРК у односу на референтни генотип, док се за полиморфизам *APC* и *KRAS* гена није показало да су као појединачни значајни фактори ризика за настанак КРК. Пацијенти са КРК значајно чешће били су носиоци комбинације *TP53 Pro/Pro + APC A/T + KRAS C/T* генотипа у односу на контролне испитанике и имали су 2,6 пута већу шансу да развију КРК у односу на референтну комбинацију генотипа. Такође, кандидат је показао да је комбиновани генотип *TP53 Pro/Pro + APC A/T + KRAS C/T* био значајно чешће присутан код пацијената са метастатским промјенама у односу на пацијенте без метастатских промјена.

3. Преглед остварених резултата рада кандидата у одређеној научној области

Кандидат је током спроведеног истраживања добио значајне оригиналне резултате,

и самим тим добијени резултати представљају новину у испитиваној области. Захваљујући чврстим претпоставкама у постављеној хипотези, темељном приступу научном проблему и јасно дефинисаним циљевима истраживање кандидат је утврдио да су пацијенти са КРК чешће имали КРК у породици, били су под стресом, имали су виши ниво стреса, мање учесталију физичку активност, чешће су били пушачи, чешће су конзумирали црвено месо, месне прерађевине, скробне намирнице и зачињену храну, а значајно рјеђе конзумирали су рибу и зелено поврће у односу на испитанике из контролне групе. Чешће конзумирање црвеног меса и месних прерађевина, као и ријетко конзумирање зеленог поврћа идентификовани су као значајни фактори ризика повезани са настанком КРК. Код 40% пацијената са КРК тумор је био локализован у ректуму, код 32% у лијевом колону, а код 28% у десном колону. У 74% случајева хистолошки тип тумора био је аденокарцином. У I и II TNM стадијуму било је 30% пацијената, у III стадијуму 48%, а у IV стадијуму 22%. Тумор је био слабо диферентован код 20%, 48% средње, а добро код 32% пацијената. Метастатске промјене у удаљеним органима имало је 60% пацијената, док је код 40% идентификовано присуство полипа, од чега код 55% већих од 1 cm. Пацијенти са КРК су у односу на испитанике из контролне групе имали значајно више просјечне вриједности неутрофила, CRP, AST, LDH, и СК, глукозе у крви, СЕА и СА 19-9 у односу на контролну групу испитаника. Кандидат је утврдио да су пацијенти са КРК су носиоци *TP53* Pro/Pro генотипа имали 2,8 пута већу шансу да развију КРК, док се за полиморфизам *APC* и *KRAS* гена није показало да су као појединачни значајни фактори ризика за настанак КРК. Пацијенти са КРК носиоци комбинације *TP53* Pro/Pro + *APC* A/T + *KRAS* C/T генотипа имали су 2,6 пута већу шансу да развију КРК у односу на референтну комбинацију генотипа. Хетерозиготни Pro/Arg генотип *TP53* гена био значајно чешћи код пацијената без стреса у односу на пацијенте који су били под стресом. Хомозиготни A/A генотип *APC* гена био је чешћи код старијих у односу на млађе пацијенте. Хетерозиготни C/T генотип *KRAS* гена био је значајно учесталији код пацијената са КРК у породици и код пацијената који су често конзумирали црвено месо, док повезаност комбинованих генотипова са непромјенљивим и промјенљивим факторима ризика за настанак КРК није уочена.

Хетерозиготни C/T генотип *KRAS* гена био је значајно чешћи код пацијената са хроничним болестима и код пацијената са аденокарциномом у односу на пацијенте са муцинозним аденокарциномом. Није уочена значајна разлика у учесталостима различитих појединачних и комбинованих генотипова *TP53*, *APC* и *KRAS* гена према Дукес класификацији КРК, локализацији тумора, величини тумора, TNM стадијуму болести и хистолошком градусу тумора. Хетерозиготни Pro/Arg генотип *TP53* гена био значајно чешћи код пацијената са метастазама у односу на пацијенте без метастаза. Такође, хетерозиготни генотип *KRAS* C/T био значајно чешћи код пацијената са метастазама у односу на пацијенте без метастаза. Комбиновани генотип *TP53* Pro/Pro + *APC* A/T + *KRAS* C/T био значајно чешће присутан код пацијената са метастатским промјенама у односу на пацијенте без метастатских промјена.

4. Оцјена о испуњености обима и квалитета у односу на пријављену тему (по поглављима)²

Кандидат је у потпуности испоштовао план и програм рада на дисертацији.

Увод

У поглављу Увод кандидат даје приказ досадашњих сазнања из литературе која су непосредно везана за предмет докторске дисертације. На детаљан начин написана су досадашња сазнања о колоректалном карциному, инциденци, преваленци, факторима ризика, дијагностици, молекуларним основама и начину лијечења колоректалног карцинома. Такође, изнијета је проблематика о полиморфизмима појединачног нуклеотида гена повезаних са колоректалним

карциномом.

Циљеви

Циљеви истраживања су јасно постављени и усаглашени са хипотезама.

Материјал и метод истраживања

Кандидат је јасно указао на материјал и научни метод истраживања у свом раду, веома прецизно су дефинисани критеријуми за укључивање и искључивање из студије, као и статистичке методе за обраду података.

Резултати

Резултати су јасно приказани у виду табела и графикана, правилно су анализирани статистичким методама обраде података, и адекватно и јасно су интерпретирани.

Дискусија

Резултати истраживања су поређени са актуелним истраживањима из дате области у свијету и код нас.

Закључци

Закључци су јасно формулисани и дефинисани на основу одговора приликом постављених питања у циљевима истраживања.

Литература

Од укупно 345 цитираних библиографских јединица из ове области, са преко 80% не старијих од пет година, које су цитиране у раду ова докторска теза рефлектује призму научних података за разумјевање проблематике која је детаљно анализирана и приказана добијеним резултатима. Докторска дисертација је и по обиму и по квалитету у потпуности испунила циљеве и задатке постављене у пријави дисертације.

5. Научни резултати докторске дисертације

У овој докторској дисертацији се први пут испитује повезаност између промјенљивих фактора ризика и полиморфизама TP53, APC и KRAS гена са настанком колоректалног карцинома. Резултати овог истраживања представљају научни допринос јер су оригинални, први пут испитивани горе наведени параметри и, свакако, полазна основа за наредна испитивања која би укључивала већи број пацијената са КРК.

6. Примјењивост и корисност резултата у теорији и пракси³

Идентификација значајних промјенљивих и непромјенљивих фактора ризика за настанак КРК нам помаже као прогностички и дијагностички фактор у раном откривању колоректалног карцинома. Такође, идентификовањем генетских фактора повезаних са настанком КРК и њиховом комбинованом анализом са промјенљивим факторима дошло се до података који су пацијенти највише изложени ризику за добијање КРК. На основу утврђених значајних фактора повезаних са настанком КРК утврђени су обрасци који би могли помоћи у издвајању особа са повећаним ризиком за настанак КРК, што би могло омогућити спровођење превентивних мјера на ризичној популацији и створити основе у сврху откривања адекватних лијекова за лијечење КРК.

7. Презентирање резултата научној јавности⁴

1. Salibasic M, Pusina S, Bicakcic E, Pasic A, Gavric I, Kulovic E, Rovcanin A, Beslija S. Colorectal Cancer Surgical Treatment, our Experience. Med Arch. 2019 Dec;73(6):412-414. doi: 10.5455/medarh.2019.73.412-414. PMID: 32082011; PMCID: PMC7007624.

2. Edin Hodzic, Sadat Pusina, Igor Gavric, Lana Sarajlic, Salem Bajramagic, Mirhan Salibasic, Emsad Halilovic. Prognostic Relevance of Preoperative "Tumor Marker Index" Values in Patients with Stage III Rectal Adenocarcinoma. Int J Biomed Healthc. 2023; 11(3): 284-306, doi: 10.5455/ijbh.2023.11.284-306,

8. ЗАКЉУЧАК И ПРИЈЕДЛОГ⁵

На основу темељне анализе докторске дисертације под називом "Повезаност промјенљивих фактора ризика и полиморфизама TP53, APC и KRAS гена са настанком колоректалног карцинома" Комисија је једногласно закључила да је кандидат изабрао актуелну и оригиналну тему истраживања коју је спровео поштујући све принципе добре клиничке праксе, научног рада и користећи савремене методе испитивања и анализе резултата. Добијени резултати представљају велики допринос савременој медицинској науци, у сврху испитивања полиморфизама гена у настанку колоректалног карцинома.

На основу наведеног, Комисија са задовољством предлаже Научно-наставном вијећу Медицинског факултета у Фочи, Универзитета у Источном Сарајеву, да прихвати извештај о урађеној докторској дисертацији др Игора Гаврића у поступку стицања звања доктора биомедицинских наука. и одобри његову јавну одбрану.

¹ Комисија мора бити именована у складу са чланом 40. Правилника о студирању на трећем циклусу студија на Универзитету у Источном Сарајеву

² Испуњеност обима и квалитета у односу на пријављену тему, нарочито, треба да садржи: аналитички и системски прилаз у оцјењивању истраживачког постављеног предмета, циља и задатака у истраживању; испуњеност научног прилаз у доказивања тврдњи или претпоставки у хипотезама, са обрадом података.

³ Истаћи посебно примјенљивост и корисност у односу на постојећа рејешења теорије и праксе.

⁴ У складу са чланом 37. Правилника о студирању на трећем циклусу студија на Универзитету у Источном Сарајеву.

⁵ У закључку се, поред осталог, наводи и назив квалификације коју докторанд стиче одбраном тезе.

Мјесто: Фоча.

Датум: 27.06.2024_____

Комисија:

1. Проф. др Зоран Радовановић, редовни професор, ужа научна област Хирургија, Универзитет у Новом Саду, предсједник комисије

2. Проф. др Милан Кулић, редовни професор, ужа научна област Хумана генетика, Универзитет у Источном Сарајеву, члан комисије

3. Доц. др Раде Милетић, доцент, ужа научна област Хирургија, Универзитет у Источном Сарајеву, члан комисије

4. Доц. др Хелена Марић-Кујунџић, ужа научна област Хирургија, Универзитет у Источном Сарајеву, члан комисије

5. Доц. др Јелена Владичић Машић, ужа научна област Онологија, Универзитет у Источном Сарајеву, члан комисије.

⁶ Чланови комисије који се не слажу са мишљењем већине чланова комисије, обавезни су да у извештај унесу издвојено мишљење са образложењем разлога због се не слажу са мишљењем већине чланова комисије (члан комисије који је издвојио мишљење потписује се испод навода о издвојеном мишљењу)

