

Оцена готове докторске тезе,
доставља;-

НАСТАВНО-НАУЧНОМ ВЕЋУ МФ
ВОЈНОМЕДИЦИНСКЕ АКАДЕМИЈЕ

На 20. седници Наставно-научног већа ВМА, одржаној 29.05.2014.год. одређена је комисија за оцену готове докторске тезе пп. асист. мр сц. мед. Зорана Костића из Клинике за општу хирургију ВМА чија тема гласи:

„Ц-РЕАКТИВНИ ПРОТЕИН И МАТРИКСНА МЕТАЛОПРОТЕИНАЗА-9 У ПЕРИТОНЕУМСКОЈ ДРЕНАЖНОЈ ТЕЧНОСТИ КАО РАНИ ПОКАЗАТЕЉИ ПОСТОПЕРАТИВНИХ КОМПЛИКАЦИЈА КОД БОЛЕСНИКА ОПЕРИСАНИХ ЗБОГ КОЛОРЕКТАЛНОГ КАРЦИНОМА”

Након увида у достављени материјал и разговора са кандидатом, комисија у саставу:
ВС проф. др. сц. мед. Дарко Мирковић, Медицински факултет Војномедицинске академије Универзитета одбране у Београду; Академик проф. др сц. мед. Предраг Пешко, Медицински факултет Универзитета у Београду; проф. др сц. мед. Владимир Ћук, Стоматолошки факултет Универзитета у Београду, подноси Наставно-научном већу Медицинског факултета Војномедицинске академије Универзитета одбране у Београду следећи

ИЗВЕШТАЈ

1. Приказ садржаја докторске дисертације

Докторска дисертација је написана на 80 страна текста и подељена је на следећа поглавља: УВОД (6 страна), ХИПОТЕЗА И ЦИЉЕВИ ИСТРАЖИВАЊА (2 стране), МЕТОД РАДА И ИСПИТАНИЦИ (4 стране), РЕЗУЛТАТИ (34 стране), ДИСКУСИЈА (25 страна),

ЗАКЉУЧАК (2 стране) и ЛИТЕРАТУРА (7 страна). Документована је са 50 табела и 11 графикона. У раду је цитирано 113 литературних података.

2. Увод, хипотеза и циљеви истраживања

Тема истраживања у овом раду су инфективне компликације и дехисценција анастомозе након оперативног лечења болесника са колоректалним карциномом.

У **уводу** кандидат дефинише појам постоперативних инфективних компликација разврставајући их на специфичне (узроковане самим оперативним лечењем) и опште (удаљене). Указује на резултате других истраживања о значају појединих фактора ризика на појаву постоперативних компликација. Специфичне инфективне компликације утичу на непосредни постоперативни морбидитет и морталитет, продужавају дужину болничког лечења, увећавају трошкове лечења и поред стадијума болести представљају негативни прогностички знак укупног преживљавања оболелих. Њихово рано откривање је пресудно за предузимање одговарајућих терапијских мера у циљу смањења негативних ефеката и побољшање резултата лечења. Кандидат указује на значај одређивања Ц-реактивног протеина (ЦРП) у серуму, као параметра системског инфламаторног одговора, у радовима других аутора, у раној детекцији постоперативних инфективних компликација. Констатује да се у тим радовима компликације посматрају свеобухватно, без посебног разматрања специфичних и општих инфективних компликација. Даље, до сада ЦРП је одређиван само у серуму и нема објављених података о његовом одређивању у дренажној течности. Обзиром да перитонеум представља семипермеабилну мембрану, изводи претпоставку да пораст вредности ЦРП-а у серуму прати пораст ЦРП-а у дренажној течности, а да и одређивање у садржају дренажне течности може да буде корисно у детекцији инфективних компликација оперативног лечења.

Дехисценција анастомозе је потенцијално најопаснија компликација оперативног лечења коју прати високи морбидитет и морталитет. Болесници са клинички манифестном дехисценцијом анастомозе, након оперативног лечења карцинома ректума, имају значајно лошије резултате лечења узимајући у обзир капацитет неоректума, проблеме са евакуацијом, ургенцијом при дефекацији и инконтиненцијом. Директно је повезана и са дужином преживљавања оперисаних болесника. Поједина експериментална истраживања

указују на значај повишене активности матриксних металопротеиназа (ММП) у настанку дехисценције анастомозе. Кандидат констатује да је до сада објављен само један клинички рад, изведен као пилот студија, који разматра значај одређивања ММП 8 и 9 у детекцији дехисценције анастомозе.

Из свега наведеног кандидат је поставио **хипотезе**:

I Пораст вредности концентрације ЦРП-а и ММП-9 у перитонеумској дренажној течности у значајној је корелацији са учесталошћу специфичних компликација оперативног лечења болесника са колоректалним карциномом

II Одређивање вредности концентрације ЦРП-а у дренажној перитонеумској течности представља осетљивију методу за детекцију специфичних компликација оперативног лечења болесника са колоректалним карциномом у поређењу са одређивањем вредности ЦРП-а у серуму

За проверу хипотеза кандидат је дефинисао **циљеве истраживања**:

Утврдити повезаност пораста концентрације ЦРП-а и ММП-9 у перитонеумској дренажној течности у детекцији дехисценције учињених анастомоза.

Упоредити концентрације ММП-9 у перитонеумској дренажној течности између група болесника са и без дехисценције учињених анастомоза.

Упоредити пораст концентрације ЦРП-а у серуму и у перитонеумској течности у групи оболелих са специфичним компликацијама.

Упоредити вредности концентрације ЦРП-а у перитонеумској дренажној течности између група оболелих са и без специфичних компликација оперативног лечења.

Упоредити вредности концентрације ЦРП-а у перитонеумској дренажној течности између група оболелих са и без општих компликација оперативног лечења.

Анализирати повезаност вредности мГПС-а и учесталости специфичних и општих инфективних компликација оперативног лечења.

Мултиваријантном анализом варијансе утврдити значајност појединих клиничких и неклиничких параметара у настанку специфичних компликација оперативног лечења.

3. Кратак опис постигнутих резултата

У поглављу **Метод рада и испитаници** представљен је дизајн истраживања-тип студије: Проспективна клиничка студија једног центра.

Ова докторска дисертација је израђена у Клиници за општу хирургију ВМА, а анализом је обухваћено 150 болесника оперисаних због карцинома левог колона и ректума. Преоперативно су код свих оболелих учињена неопходна испитивања у циљу постављања дијагнозе и утрђивања проширености болести. Регистровани су и параметри од значаја за исход оперативног лечења: године старости оболелих, пол, присуство удружених болести, индекс телесне масе. Такође је преоперативно код свих оболелих одређивана вредност модификованог Глазгов прогностичког скорa (мГПС) дефинисаним вредношћу ЦРП-а у серуму и концентрацијом албумина. Анализом су обухваћени само болесници код којих је учињена класична елективна, радикална или палијативна хируршка интервенција са учињеном колоколонијном или колоректалном анастомозом, шавном техником или уз помоћ механичких шивача. Из истраживања су искључени болесници са проперативно већ присутним клиничким знацима инфекције или неког другог инфламаторног стања и они оперисани због рецидива тумора. У непосредном постоперативном току регистрована је појава свих општих (пнеумонија, уринарна инфекција, инфекција узрокована централним венским катетером) и специфичних (инфекција предела оперативне ране, појава интраабдоминалних апсцесних колекција, дехисценција анастомозе) инфективних компликација. Црвенило, оток и гнојна секреција на месту оперативне инцизије били су клинички параметри за постојање инфекције у пределу оперативне ране. Клинички критеријуми дехисценције анастомозе дефинисани су присуством гнојног или фекалног садржаја на месту дрена, пелвичног апсцеса, перитонитиса, ректовагиналне фистуле или појавом пурулентног садржаја из ректума. Постојање интраабдоминалних апсцеса одређено је гнојном секрецијом након хируршке или перкутане дренаже ових колекција под контролом ултразвука. Одговарајућа клиничка слика и позитиван РТГ налаз код пнеумоније, налаз седимента урина и уринокултуре код уринарне инфекције и позитивне хемокултуре код инфекција узрокованих централним венским катетером дефинисали су постојање појединих општих инфективних компликација. Првог, трећег, петог и седмог постоперативног дана одређиване су концентрације ЦРП-а у серуму и перитонеумској

дренажној течности имунофелометријском методом на аутоанализатору *SIEMENS (DADE Behring BN II)* и активност ММП-9 у перитонеумској дренажној течности *ELISA* методом. Све лабораторијске анализе учињене су у Институту за медицинску биохемију ВМА.

У **статистичкој обради података** поред уобичајених параметара дескриптивне статистике (средња вредност, стандардна девијација, 95% границе поверења и фреквенције појаве неких обележја), коришћени су и други тестови из домена аналитичке статистике. У зависности од нормалности расподеле праћених параметара и броја група између којих је тражена статистичка значајност, од параметарских тестова је коришћен *Studentov t* тест за независна обележја, а од непараметарских *Wilcoxon*-ов тест, *Mann-Whitney U* тест, *Friedman*-ова анализа варијансе за поновљена мерења и *Kruskal-Wallis* тест за независна обележја. Постојање статистички значајне разлике између дистрибуција фреквенција проверавана је применом *hi* (χ^2) квадрат теста. Смер и интензитет корелације појединих параметара анализирани су применом *Pearson*-ове корелационе анализе. Применом бинарне логистичке регресије процењиван је значај бројних фактора ризика на циљни исход оперативног лечења. Сензитивност и специфичност битних биохемијских маркера анализирани су применом *ROC (receiver operating characteristic)* криве. Минимална статистичка значајност утврђена је на нивоу $p < 0,05$. За статистичку анализу коришћен је комаречијални статистички софтвер *SPSS*, верзија 17 (САД).

Добијени **резултати** су показали да је укупна стопа морбидитета оперативног лечења била 34%, а морталитета 4%. Специфичне инфективне компликације оперативног лечења су регистроване код 41 (27,3%), а опште код 10 (6,7%) оболелих. У 99 болесника постоперативни ток је био без компликација. Клинички манифестну дехисценцију анастомозе је имало 15 болесника, два оболела (4,2%) са операцијама карцинома левог колона и 13 (12,6%) са карциномом ректума. Униваријантна и мултиваријантна анализа су показале да је мушки пол најзначајнији фактор ризика за појаву специфичних инфективних компликација, а мушки пол, анастомоза креирана на удаљености мањој од 10цм од аналног отвора, преоперативна радиотерапија и деривациона стома за дехисценцију анастомозе. Године старости, индекс телесне масе, удружене болести и локализација тумора нису били значајни фактори за настанак дехисценције анастомозе. У свим групама болесника у непосредном постоперативном току постоји пораст вредности

ЦРП-а у серуму са максимално достигнутим вредностима трећег постоперативног дана. И док код оболелих без компликација оперативног лечења долази до опадања вредности, високе вредности ЦРП-а у серуму се код болесника са специфичним инфективним компликацијама одржавају и петог и седмог дана. И док постоји високо статистички значајна разлика ($p < 0,001$) између регистрованих средњих вредности ЦРП-а у серуму између појединих дана код болесника без компликација, код оболелих са специфичним компликацијама нема значајне разлике између трећег и петог постоперативног дана. Код оболелих са општим инфективним компликацијама регистрован је и мањи пораст и умереније опадање ЦРП-а у серуму тако да нема статистички значајне разлике између појединих дана. Првог постоперативног дана нема статистички значајне разлике у вредностима ЦРП-а у серуму између група болесника без и са компликацијама, трећег, петог и седмог постоперативног дана регистрована је висока статистички значајна разлика ($p < 0,001$) између оболелих без и оних са укупним и специфичним инфективним компликацијама, а петог и седмог постоперативног дана статистички значајна разлика ($p < 0,05$) постоји између групе болесника без и са општим инфективним компликацијама. Средње просечне вредности ЦРП-а у дренажној течности су статистички значајно ниже ($p < 0,001$ и $p < 0,05$) у поређењу са серумским вредностима за све групе болесника и за све испитиване дане. Тренд првобитног пораста вредности ЦРП-а у дренажној течности са максималним вредностима трећег дана и накнадно опадање вредности које је израженије код болесника без у поређењу са групама болесника са инфективним компликацијама одговара резултатима добијеним праћењем вредности ЦРП-а у серуму. Корелациона анализа је показала високо статистички значајну позитивну повезаност ($p < 0,001$) између вредности ЦРП-а у серуму и дренажној течности код болесника без компликација за све испитиване дане, код оболелих са укупним и специфичним ($p < 0,001$) и општим ($p < 0,05$) инфективним компликацијама за пети и седми постоперативни дан. Анализа учињена применом *ROC (receiver operating characteristic)* криве, иако је статистичка значајност присутна за све дане, је показала да су вредности ЦРП-а и у серуму и у дренажној течности добијене петог постоперативног дана најзначајније у детекцији инфективних компликација. Површина испод *ROC* криве петог постоперативног дана за вредности ЦРП-а у серуму је била 0,903 и 0,926, а за ЦРП у дренажној течности 0,895 и 0,914 за групе болесника са укупним и специфичним инфективним компликацијама. За изабрану

граничну (*cutoff*) вредност ЦРП-а у серуму од 82мг/л петог постоперативног дана, код 82% оболелих регистроване су специфичне инфективне компликације, уз специфичност методе од 81%. Сви оболели са вредностима ЦРП-а у серуму изнад 139мг/л имали су неку од специфичних инфективних компликација оперативног лечења. Код 84% оболелих са вредношћу ЦРП-а у дренажној течности од 61мг/л регистроване су специфичне инфективне компликације, уз специфичност од 89%. 99% болесника са вредностима ЦРП-а у дренажној течности од 77мг/л петог постоперативног дана имали су неку од специфичних инфективних компликација.

Код обе упоређене групе болесника, без компликација и са дехисценцијом анастомозе, постоји опадање вредности ММП-9 у дренажној течности након првог постоперативног дана. Статистички значајна разлика у вредностима ММП-9 постоји између појединих дана у групи оболелих без компликација, док статистичка значајност није регистрована у групи болесника са дехисценцијом анастомозе. Корелациона анализа је показала да пораст вредности ММП-9 у дренажној течности код болесника без компликација одговара порасту вредности ММП-9 трећег, петог и седмог постоперативног дана, а у групи са дехисценцијом анастомозе позитивна статистичка повезаност постоји само између суседних дана. Није било статистички значајне разлике (*ns*) у просечним вредностима ММП-9 у дренажној течности између група болесника без компликација и са дехисценцијом анастомозе за испитиване дане.

4. Оцена резултата истраживања

У поглављу **дискусија** кандидат је детаљно и критички коментарисао добијене резултате у светлу постојећих доступних литературних података и објављених резултата. За разлику од других истраживања која за циљ имају рану дијагностику инфективних компликација оперативног лечења, у овој студији изабрана група испитаника је хомогена код којих је учињена колоректална ресекција са примарном анастомозом, а инфективне компликације нису посматране само свеобухватно, већ су разврстане на укупне, специфичне и опште инфективне компликације. Посебно је разматрана дехисценција анастомозе као потенцијално најопаснија компликација оперативног лечења. На одговарајући начин кандидат је приказао тренд промена вредности ЦРП-а у серуму и дренажној течности код оболелих без и са инфективним компликацијама оперативног лечења. Недвосмислено је

показао да је серијско мерење вредности ЦРП-а у серуму од значаја у раној дијагностици инфективних компликација оперативног лечења, посебно специфичних. Доказао је да је одређивање вредности ЦРП-а могуће урадити и у садржају дренажне течности, да постоји значајна позитивна корелација са вредностима ЦРП-а у серуму у детекцији специфичних и општих инфективних компликација петог и седмог постоперативног дана. Најзначајније вредности за детекцију специфичних инфективних компликација добијене су петог постоперативног дана, уз већу сензитивност и специфичност за вредности ЦРП-а у дренажној течности у поређењу са серумом. Анализирајући добијене резултате одредио је вредности ЦРП-а у серуму и дренажној течности за које су сви оперисани болесници имали неку од специфичних инфективних компликација оперативног лечења. Истраживањем није доказана вредност одређивања ММП-9 у дренажној течности у детекцији дехисценције анастомозе. Могуће објашњење кандидат налази у начину узорковања, чувања и накнадне анализе садржаја дренажне течности.

5. Објављени радови и саопштења који чине део тезе:

Zoran Kostić, Marina Panišić, Zoran Mijušković, Damjan Slavković, Mile Ignjatović

Diagnostic value of serial measurement of C-reactive protein in the serum and matrix metalloproteinase-9 in the drainage fluid in the detection of infectious complications and anastomotic leakage in patients with colorectal resection. (Vojnosanit Pregl. Accepted for press)

Zoran Kostić, Marina Panišić, Zoran Mijušković, Damjan Slavković, Mile Ignjatović

C-reactive protein in the drainage fluid as a predictor for anastomotic leakage after elective colorectal resection. (Vojnosanit Pregl. Accepted for press)

6. Закључно мишљење и предлог

Докторска теза пп. асист. мр сц. мед. Зорана Костића из Клинике за општу хирургију ВМА под насловом: „Ц-РЕАКТИВНИ ПРОТЕИН И МАТРИКСНА МЕТАЛОПРОТЕИНАЗА-9 У ПЕРИТОНЕУМСКОЈ ДРЕНАЖНОЈ ТЕЧНОСТИ КАО РАНИ ПОКАЗАТЕЉИ ПОСТОПЕРАТИВНИХ КОМПЛИКАЦИЈА КОД БОЛЕСНИКА ОПЕРИСАНИХ ЗБОГ КОЛОРЕКТАЛНОГ КАРЦИНОМА” представља оригиналан

актуелан рад, клиничку студију из области хирургије, која за свој циљ има решавање конкретног клиничког проблема, а тиче се постоперативних инфективних компликација. Истраживање у овој студији је спроведено систематично, студиозно и целовито. Кандидат је показао свеобухватно и детаљно познавање проблематике коју је изабрао за своје изучавање. Компликације су неизбежан пратилац оперативног лечења и значајно доприносе лошијим резултатима лечења. Могућност њиховог раног откривања, и пре појаве јасних клиничких знакова, омогућила би и раније предузимање одговарајућих терапијских мера у циљу смањења или елиминисања негативних ефеката. У истраживању је јасно показано да серијско мерење вредности ЦРП-а има значајно место у раној детекцији инфективних компликација, посебно оних које су директно везане за саму оперативну процедуру. И то не само у серуму, већ да се вредности ЦРП-а могу подједнако поуздано одређивати и у садржају дренажне течности о чему до сада не постоје литературни подаци. Последњих година у литератури се могу наћи извештаји о покушајима одређивања различитих биохемијских маркера у дренажној течности у циљу што ранијег откривања специфичних инфективних компликација оперативног лечења, посебно дехисценције анастомозе. Одређивање ЦРП-а у дренажној течности могло би се на основу овог истраживања поуздано придодати тој палети маркера дехисценције анастомозе. Своје место и клиничку примену ово истраживање има поред могућности раног откривања инфективних компликација и у могућности да се поузданије предвиди нормалан постоперативни ток болесника. Као најзначајније у овом раду, добијене су вредности ЦРП-а и у серуму и у дренажној течности петог постоперативног дана. И док је са једне стране, код оболелих са тачно дефинисаним вредностима ЦРП-а потребно трагати за специфичним компликацијама, посебно дехисценцијом анастомозе, болесници, са нижим вредностима и без јасне клиничке сумње за постојање компликација оперативног лечења, могли би се раније отпуштати кући уз смањење дужине и трошкова болничког лечења. Ово је посебно важно у ери усвајања протокола убрзаног опоравка болесника (*Enhanced Recovery After Surgery*). У овом истраживању се одређивање ММП-9 у дренажној течности није показало значајним у детекцији дехисценције анастомозе. Ово је тек други клинички рад у доступној литератури који разматра значај одређивања ММП-9 у детекцији ове потенцијално најопасније компликације оперативног лечења. Иако је први потврдио резултате експерименталних истраживања, да ли су негативни резултати у овој

студији последица начина узорковања, чувања и анализе дренажне течности или је посреди нешто друго, остаје да се потврди у евентуалним будућим истраживањима.

Чланови комисије сагласни су у закључку да докторска теза пп. асист. мр сц. мед. Зорана Костића испуњава све предвиђене критеријуме које академска пракса захтева и представља значајан и оригиналан допринос у проучавању болесника са инфективним компликацијама оперативног лечења. Комисија једногласно предлаже Наставно-научном већу Медицинског факултета Војномедицинске академије Универзитета одбране у Београду, с обзиром да су испуњени сви законски услови за јавну одбрану докторске тезе, да извештај прихвати и одобри јавну одбрану докторске дисертације под насловом „Ц-РЕАКТИВНИ ПРОТЕИН И МАТРИКСНА МЕТАЛОПРОТЕИНАЗА-9 У ПЕРИТОНЕУМСКОЈ ДРЕНАЖНОЈ ТЕЧНОСТИ КАО РАНИ ПОКАЗАТЕЉИ ПОСТОПЕРАТИВНИХ КОМПЛИКАЦИЈА КОД БОЛЕСНИКА ОПЕРИСАНИХ ЗБОГ КОЛОРЕКТАЛНОГ КАРЦИНОМА”.

У Београду, дана 15.08.2014. године

ВС проф. др сц. мед. Дарко Мирковић

Академик проф. др сц. мед. Предраг Пешко

Проф. др сц. мед. Владимир Ђук