

УНИВЕРЗИТЕТ У КРАГУЈЕВЦУ
ФАКУЛТЕТ МЕДИЦИНСКИХ НАУКА
НАСТАВНО-НАУЧНОМ ВЕЋУ

1. Одлука Наставно – научног већа Факултета медицинских наука, Универзитета у Крагујевцу

На седници Наставно-научног већа Факултета медицинских наука у Крагујевцу, одржаној дана 03.06.2015. године, одлуком бр. 01/5586/3-35 формирана је Комисија за оцену и одбрану завршене докторске дисертације под називом **„Корелација експресије CD31 и глаткомишићног актина са морфолошким карактеристикама аденокарцинома ректума ”** кандидата др Иване Туфегџић, у следећем саставу:

- 1. доц. др Весна Станковић**, доцент Факултета медицинских наука Универзитета у Крагујевцу за ужу научну област Патолошка анатомија, председник
- 2. доц. др Драгче Радовановић**, доцент Факултета медицинских наука Универзитета у Крагујевцу за ужу научну област Хирургија, члан
- 3. проф. др Љубинка Јанковић Величковић**, редовни професор Медицинског факултета Универзитета у Нишу за ужу научну област Патолошка анатомија, члан

Комисија је прегледала и проучила докторску дисертацију др Иване Туфегџић и подноси Наставно-научном већу следећи

ИЗВЕШТАЈ

2.1. Значај и допринос докторске дисертације са становишта актуелног стања у одређеној научној области

Докторска дисертација кандидата др Иване Туфегџић под називом: **„Корелација експресије CD31 и глаткомишићног актина са морфолошким карактеристикама аденокарцинома ректума”** је урађена под менторством проф. др сц мед Снежане Јанчић, редовног професора Факултета медицинских наука, Универзитета у Крагујевцу, ужа научна област Патолошка анатомија, представља оригиналну студију која се бави испитивањем перитуморалне строме аденокарцинома ректума, са посебним освртом на корелацију експресије CD31 и глаткомишићног актина и патохистолошких карактеристика аденокарцинома.

Ова студија представља оригинално истраживање из области патологије и онкологије и базирана је на интересантној и значајној проблематици везаној за прецизније сагледавање карактеристика саставних делова строме тумора коју чине: различита колична дезмоплазије, различита количина миофибробласта, различите вредности ендотелијалне површине, густине и обима васкуларних простора аденокарцинома ректума, као и сагледавање њиховог односа са различитим патохистолошким карактеристикама аденокарцинома ректума. Без обзира на значајна сазнања о карактеристикама строме аденокарцинома, још увек није сасвим јасно зашто аденокарциноми ректума са различитом количином дезмоплазије, миофибробласта, као и различитим степеном ангиогенезе могу имати различит степен сколоности ка инвазији и метастазама.

Докторска теза кандидата је својим дизајном омогућила боље сагледавање хистолошких, хистохемијских и имунохистохемијских карактеристика саставних делова строме, односно одређивање количине миофибробласта, дезмоплазије, као и одређивање вредности ендотелијалне површине, густине и обима васкуларних простора. Такође је допринела бољем разумевању њиховог односа са различитим хистопатолошким карактеристикама аденокарцинома ректума. У одређивању квантитативних карактеристика саставних делова строме је коришћена компјутерска „*image*“ анализа, чиме су добијене и њихове просечне вредности које могу указати на присуство метастаза.

2.2. Оцена да је урађена докторска дисертација резултат оригиналног научног рада кандидата у одговарајућој научној области

Прегледом литературе прикупљене детаљним и систематским претраживањем биомедицинских база података „PubMed“, „Medline“, „KoBSON“, „SCIndeks“ помоћу кључних речи: аденокарцином ректума, миофибробласти, дезмоплазија, ангиогенеза, SMA, CD31 се не налази се на студије сличног дизајна и методолошког приступа. У наведеним базама података не постоје публиковане студије које су коришћењем „*image*“ анализе утврдиле вредности експресије глаткомишићног актина, CD31, као и дезмоплазије и испитивале њихову повезаност са морфолошким карактеристикама аденокарцинома ректума.

На основу тога Комисија констатује да докторска дисертација кандидата др Иване Туфегдић, под називом „**Корелација експресије CD31 и глаткомишићног актина са морфолошким карактеристикама аденокарцинома ректума**“, представља резултат оригиналног научног рада, а оригиналност ове студије се огледа у томе што су први пут коришћењем компјутерозоване „*image*“ анализе утврђене вредности параметара строме који могу указати на присуство метастаза.

2.3. Преглед остварених резултата рада кандидата у одређеној научној области

А. Лични подаци

Др Ивана Туфегдзић је рођена 1972 године у Београду, где је са одличним успехом завршила основну школу и Трећу београдску гимназију. Медицински факултет је завршила 1999 године на Медицинском факултету у Београду, са просечном оценом 8, 88.

Специјализацију из патологије је завршила на Институту за патологију и судску медицину Војномедицинске академије у Београду 2004 године са одличним успехом, где и сада ради на месту специјалисте патолога са ужим областима интересовања из патологије дигестивног система и патологије јетре.

Стални је члан Онколошког конзилијума за болести дигестивног система, као и Трансплатационог тима за трансплантацију јетре ВМА. Године 2008 је била на едукацији из области патологије трансплантације јетре у *Institute of Liver Studies, King's College Hospital* у Лондону, Велика Британија.

Студент је Докторских академских студија на Медицинском факултету у Крагујевцу, смер Онкологија, где је 2009 године положила усмени докторски испит. Од 2013 године је асистент у настави на Медицинском факултету Универзитета одбране у Београду, Војномедицинска академија, за ужу научну област Хистологија и ембриологија.

Активно се служи енглеским језиком.

Б. Списак објављених радова (прописани минимални услов за одбрану докторске дисертације)

Научни радови објављени у целини у часописима :

1. Tufegdžić I, Radovanović Z, Jović J, Jančić S. Quantitative evaluation of stromal myofibroblasts and their significance for metastatic capacity of colorectal carcinoma, *Journal of BUON*. 2012; 17: 85-91 (M23= 3 бода)

2. Micković S, Bezmarević M, Nikolić-Micković I, Mitrović M, Tufegdžić I, Mirković D, Sekulović L, Trifunović B. Traumatic mesenteric pseudocyst. *Vojnosanit Pregl*. 2014 Jul;71(7):685-8. (M23= 3 бода)

3. Bezmarević M, Mirković D, Perisić N, Cerović S, Panisić M, Micković S, Tufegdžić I, Mitrović J, Djordjević Z. Sclerosing mesenteritis as a rare cause of upper ileus. *Vojnosanit Pregl*. 2013 Mar;70(3):326-30 (M23= 3 бода)

4. Micković S, Mitrović M, Stanković N, Bezmarević M, Jovanović M, Mirković D, Tufegdžić I, Micković IN. Splenic artery pseudoaneurysm as a complication of pancreatic pseudocyst Vojnosanitetski Pregled. 2011; 68(7):602-6. (M23= 3 бода)

5. Milić R., Plavec G., Tufegdžić I., Tomić I., Šarac S., Lončarević O. Nitrofurantion induced immune-mediated lung and liver disease. Vojnosanitetski pregled, 2012; 69(6): 536–40. (M23= 3 бода)

6. Stošić B, Tufegdžić I, Hipertenzija uzrokovana hiperurikemijom – modaliteti lečenja Acta Medica Medianae 2011; Vol.50 (3): 49-52(M52= 1,5 бод)

2.4. Оцена о испуњености обима и квалитета у односу на пријављену тему

Наслов докторске дисертације и урађеног истраживања се поклапају. Циљеви истраживања идентични су са одобреним у пријави тезе. Примењена методологија истраживања идентична је са одобреном.

Докторска дисертација др Иване Туфегџић под називом **„Корелација експресије CD31 и глаткомишићног актина са морфолошким карактеристикама аденокарцинома ректума”** садржи следећа поглавља: *Увод, Преглед литературе, Циљ истраживања, Материјал и методе, Резултати, Дискусија, Закључак и Литература*. Рад садржи: 31 табеларних приказа, 26 графикана и 42 слика, а у поглављу *Литература* адекватно је цитирано 326 референци из савремене домаће и иностране литературе.

У *Уводном* делу кандидат укратко разматра садашњи ниво сазнања о испитиваној теми, о значају изабране теме за медицинску науку, затим истиче непознанице о теми и повезује их са темом свог рада.

У поглављу *Преглед литературе*, кандидат је позивајући се на савремене литературне податке јасно и прецизно изложио досадашња сазнања о анатомским, хистолошким и функционалним карактеристикама ректума, затим о епидемиологији, етиологији, патогенези, клиничкој слици и дијагностици тумора, са посебним освртом на патологију аденокарцинома, где је прецизно описан макроскопски изглед тумора, микроскопски изглед са детаљним описом различитих хистолошких градуса, као и описом карактеристика строме тумора. Дата су савремена сазнања о различитим хистолошким подтипovima, начину раста, патолошком стадијуму, као и прогностичким параметрима аденокарцинома ректума.

У *Циљу истраживања* јасно су изложени конкретни задаци, при чему је основни циљ студије хистохемијско и имунохистохемијско проучавање строме аденокарцинома ректума. У складу са тим постављени су задаци да се користећи компјутеризовану “*image*” анализу изврши: хистохемијско и квантитативно испитивање перитуморалне дезмопластичне реакције, имунохистохемијско и квантитативно испитивање миофибробласта, као и густине, обима и вредности ендотелијалне површине („*endothelial*

area“, EA) васкуларних простора васкулатуре строме у различитим деловима перитуморалне строме. У даљем истраживању је анализирана корелација количине дезмоплазије, миофибробласта, као и вредности ендотелијалне површине, густине и обима васкуларних простора у односу на хистолошки градус и стадијум тумора, присутност лимфатичке, венске инвазије и перинеуралне инвазије, начином раста тумора, као и присуством метастаза у лимфним нодусима и јетри, уз утврђивање просечних вредности испитиваних параметара строме, које би могли указати на присуство метастаза у лимфним чворовима и јетри.

Материјал и методе истраживања подударни су са наведеним у пријави докторске дисертације и презентовани су на одговарајући начин. Истраживање је обављено у виду ретроспективне клиничко-експерименталне студије. За истраживање је коришћено 70 готових парафинских калупа ресектата ректума наведених пацијената који су обрађени у Институту за патологију и судску медицину Војномедицинске академије у Београду. За визуелизацију перитуморалне дезмоплазије је коришћено специјално хистохемијско бојење по методи Van Gieson. За визуелизацију миофибробласта је коришћено специјално имунохистохемијско бојење глаткомишићни актин (Smooth Muscle Actin- SMA), а за визуелизацију ендотелних ћелија које облажу лумен васкуларних простора имунохистохемијско бојење са CD31 антителом. Са сваког препарата се су се одредили: хистолошки градус тумора, патолошки стадијум тумора, присутност лимфатичке и венске инвазије, присутност перинеуралне инвазије, начин раста тумора, присуство метастаза у лимфним чворовима и јетри. Конвенцијалном семикавантитативном методом за сваки препарат утврдио степен дезмоплазије и инфламаторног инфилтрата као: оскудан, умерен или обилан. Препарати ће се затим фотографисати на дигиталном микроскопу под увећањем x5 за дезмоплазију, x10 за васкулатуру и x20 за миофибробласте. Са сваког препарата обојеног SMA и Van Gieson методом се урадило по девет снимака из различитих делова тумора. Са препарата бојених на CD31 по девет снимака по следећој шеми: три слике са инвазивног фронта тумора, три слике из зона „hot spots“ и три слике из тумора изабране методом случајног избора. Компјутерска анализа фотографија се учинила коришћењем научног софтверског програма „ImageJ“. За анализу параметара дезмоплазије, миофибробласта, као и ендотелијалне арее (ендотелијална ареа представља проценат површине CD31 позитивних ендотелних ћелија) систем селектоване зоне, аутоматски пребацује у проценат испитиваног поља (% area). Средње вредности процента сасваког препарата се узму у рад за даљу анализу. Одређивање густине васкуларних простора је изражено бројем CD31 позитивних васкуларних простора по 1mm^2 , док је обим васкуларних простора изражен у μm . Добијене вредности процента дезмоплазије, миофибробласта, густине, обима и површине васкулатуре би се упоредиле са свим напред описаним морфолошким карактеристикама аденокарцинома ректума.

За статистичку обраду добијених резултата у овој студији коришћене су дескриптивне и аналитичке статистичке методе. Од дескриптивних коришћени су апсолутни и релативни бројеви (n, %), мере централне тендеције (аритметичка средина,

медијана) и мере дисперзије (стандардна девијација, интервал варијације). Од аналитичких коришћени су тестови разлике, параметарски (t test) и непараметарски (Mann-Whitney U тест), као и анализа повезаности (Спирманова корелациона анализа). У аналитичкој статистици коришћена је и ROC анализа (Receiver operating characteristics), а *cut-off* вредност одређивана је или на основу графичког приказа (најбољи однос сензитивности и специфичности) или на основу Јуденовог индекса. Резултати су приказани табеларно и графички. Сви подаци обрађени су у SPSS 20.0 (IBM корпорација) софтверском пакету. Тестирање значајности извршено је на нивоу вероватноће $p < 0,05$.

Резултати истраживања су систематично приказани и добро документовани са 26 табела, 24 графикамом и 36 фотографије. Показано је да је количина миофибробласта и дезмоплазије у строми аденокарцинома ректума су у позитивној корелацији са прогностичким параметрима који указују на лошији исход болести као што су *high grade* хистолошки градус тумора, мања количина инфламаторног инфилтрата и инфилтративани начин раста. Количина миофибробласта и дезмоплазије су у позитивној корелацији са присуством лимфатичке, венске и перинеуралне инвазије, као и већег патолошког стадијума болести. Вредности ендотелијалне површине на местима изабраним методом случајног избора су у позитивној корелацији са присуством венске инвазије. Вредности ендотелијалне површине на местима највеће густине васкулатуре тумора су позитивној корелацији са тубуларним подтипом. У овој студији је показано да за исход присуства метастаза аденокарцинома у лимфним чворовима утврђено постоји гранична вредност количине миофибробласта (5,65% испитиваног поља), као и количине дезмоплазије (8,89% испитиваног поља), док за исход присуства метастазе аденокарцинома у јетри је утврђено да постоји гранична вредности количине миофибробласта (5,71 % испитиваног поља).

У поглављу *Дискусија* представљена је анализа добијених резултата и њихово поређење са литературним подацима из ове области. Коментари добијених резултата су језгровити, а начин приказивања података чини их прегледним и разумљивим. Резултати су дискутовани у контексту контрадикторних ставова односа саставних делова строми и патохистолошких карактеристика аденокарцинома, као и о контрадикторним подацима о утицају строми на инвазивност и склоност тумор ка метастазирању. При томе су наведени ставови из најзначајнијих оригиналних и ревијских научних радова из поменуте области.

У *Закључку* је истакнуто да су количина миофибробласта и дезмоплазије у строми аденокарцинома ректума у позитивној корелацији са прогностичким параметрима који указују на лошији исход болести, док су вредности мерења ендотелијалне површине васкуларних простора једини васкуларни параметар који је указао на лошији исход болести.

Литература је адекватна по обиму и садржини. Цитиране су 326 библиографске јединице из домаћих и иностраних стручних публикација.

На основу претходно изнетих чињеница, Комисија сматра да завршена докторска дисертација под насловом **„Корелација експресије CD31 и глаткомишићног актина са**

морфолошким карактеристикама аденокарцинома ректума”, по обиму и квалитету израде у потпуности одговара пријављеној теми дисертације.

2.5. Научни резултати докторске дисертације

Најзначајнији резултати истраживања садржани су у следећим закључцима:

1. Количина миофибробласта и дезмоплазија су у позитивној корелацији са:
 - а) хистолошким градусом тумора
 - б) патолошким (pT) стадијумом тумора и стадујом тумора по *Astler Collier*-у
 - в) инфилтративним начином раста
 - г) присуством лимфатичке, венске и перинеуралне инвазије
 - д) корелацији присуством метастаза у лимфним чворовима.
2. Количина миофибробласта и дезмоплазије је у обрнутој корелацији са количином инфламаторног инфилтрата
3. Количина миофибробласта је у позитивној корелацији са присуством удаљених метастаза у јетри.
4. Вредности ендотелијалне површине на местима изабраним методом случајног избора су у позитивној корелацији са присуством венске инвазије.
5. Вредности ендотелијалне површине на местима највеће густине васкулатуре тумора су позитивној корелацији са тубуларним подтипом .
6. За исход присуства метастаза аденокарцинома у лимфним чворовима утврђено је да постоји гранична вредност количине миофибробласта (5,65% испитиваног поља) и количине дезмоплазије (8,89% испитиваног поља).
7. За исход присуства метастазе аденокарцинома у јетри утврђено је да постоји гранична вредности количине миофибробласта (5,71 % испитиваног поља)

2.6. Примењивост и корисност резултата у теорији и пракси

Истраживање је допринело прецизнијем сагледавању карактеристика саставних делова туморске строме, као и утврђивању њихове повезаности са хистопатолошким особинама аденокарцинома ректума. Утврђена је високо статистички значајна корелација количине дезмоплазије и миофибробласта са степеном хистолошког градуса, патолошким стадијумом, присуством лимфатичке, венске и перинеуралне инвазије, инфилтративним начином раста тумора, присуством метастаза у лимфним чворовима, а за количину миофибробласта и високо статистички значајна корелација са присуством удаљених метастаза у јетри. Такође је утврђена високо статистички значајна корелација вредности ендотелијалне површине васкуларних простора на местима изабраним методом случајног избора са присуством венске инвазије, као и високо статистички значајна корелација вредности ендотелијалне површине на местима највеће густине васкулатуре тумора са

тубуларним подтипом аденокарцином. Ови резултати показују да количина миофибробласта, дезмоплазије, као вредности ендотелијалне површине васкуларних простора могу бити индикатор туморске прогресије аденокарцинома ректума.

Практична примена резултата се односи на свакодневни рад при микроскопирању узорака тумора добијених ендоскопском биопсијом, чијим анализирањем параметара туморске строме, уз корићење „*image*“ анализе се може утврдити постоји ли склоност тумора ка инвазији и метастазирању, што има даље значајне импликације на примену оптималне антитуморске терапије.

2.7. Начин презентирања резултата научној јавности

Резултати истраживања који се односе на квантитативну евалуацију глаткомишићног актина и његовог значаја на метастатски потенцијал аденокарцинома ректума су прихваћени за публикавање у часопису од међународног значаја, а планирано је да остали резултати овог истраживања такође буду публиковани као оригинално истраживање у часопису од међународног значаја, односно презентовани на научним и стручним скуповима у форми усмене или постер презентације.

ЗАКЉУЧАК

Комисија за оцену и одбрану завршене докторске дисертације кандидата др Иване Туфегџић, под називом „**Корелација експресије CD31 и глаткомишићног актина са морфолошким карактеристикама аденокарцинома ректума**”, на основу свега наведеног сматра да је истраживање у оквиру дисертације засновано на савременим научним сазнањима и да је адекватно постављено и спроведено.

Комисија сматра да докторска дисертација др Иване Туфегџић, под менторством проф.др сц мед Снежане Јанчић, представља оригинални научни рад и има велики научни и практични значај у разумевању односа саставних делова строме тумора и хистопатолошких карактеристика аденокарцинома ректума, као и његове склоности ка инвазији и метастазирању.

На основу свега изложеног Комисија предлаже Наставно-научном већу Факултета медицинских наука Универзитета у Крагујевцу да докторска дисертација под називом „**Корелација експресије CD31 и глаткомишићног актина са морфолошким карактеристикама аденокарцинома ректума**”, кандидата др Иване Туфегџић буде позитивно оцењена и одобрена за јавну одбрану.

Чланови Комисије

1. доц. др Весна Станковић, доцент Факултета медицинских наука Универзитета у Крагујевцу за ужу научну област Патолошка анатомија, председник

1. доц. др Драгче Радовановић, доцент Факултета медицинских наука Универзитета у Крагујевцу за ужу научну област Хирургија, члан

3. проф. др Љубинка Јанковић Величковић, редовни професор Медицинског факултета Универзитета у Нишу за ужу научну област Патолошка анатомија, члан

Крагујевац, 02.07.2015. године