

НАУЧНО НАСТАВНОМ ВЕЋУ МЕДИЦИНСКОГ ФАКУЛТЕТА УНИВЕРЗИТЕТА У КРАГУЈЕВЦУ

На седници Научно-наставног већа Медицинског факултета Универзитета у Крагујевцу одржаној дана 27.09.2006.године одређена је комисија за оцену докторске дисертације под називом **"Хронична лимфоцитна леукемија: апоптоза малигно промењених лимфоцита и оксидативни стрес "** кандидата др Предрага Ђурђевића, асистента Медицинског факултета Универзитета у Крагујевцу, у ужој научној области Патолошка физиологија и специјалисте интерне медицине у Интерној клиници Клиничког центра у Крагујевцу.

У комисију за оцену завршене докторске дисертације одређени су:

1. Проф др Снежана Живанчевић-Симоновић, председник
2. Проф др Небојша Арсенијевић, ментор
3. Проф др Драгица Томин, члан
4. Доц др Небојша Анђелковић, члан
5. Доц др Дејан Баскић, члан

После прегледа и увида у докторску дисертацију Комисија подноси Већу следећи

ИЗВЕШТАЈ

Наслов докторске дисертације и урађеног истраживања се поклапају.

Одобрени циљеви истраживања и постављени у раду су остали исти.

Одобрена и примењена методологија у раду је остала иста.

Докторска дисертација **"Хронична лимфоцитна леукемија: апоптоза малигно промењених лимфоцита и оксидативни стрес "** кандидата др Предрага Ђурђевића, састоји се из 7 поглавља, документована је табелама и графиконима уз цитирање референци из савремене светске литературе. Шест слика и једна табела, које су приказане у поглављу Увод, преузете су из публикованих радова и књига. Све остале слике и табеле су приказ оригиналних резултата др Предрага Ђурђевића. Иначе, рад је подељен у следећа поглавља: Увод, Циљеви, Материјал и методе, Резултати, Дискусија, Закључци и Литература, док су у прилогу додати Апстракт и Скраћенице.

У уводном делу изнесена су најновија сазнања о хроничној лимфоцитној леукемији, апоптози и оксидативном стресу. Посебно је наглашен значај апоптозе која представља један строго контролисани процеса умирања ћелија уз истицање најзначајнијих сигналних путева који ћелију уводи у апоптозу. Такође је веома детаљно описан и оксидативни стрес као потенцијални узрок настајања многих патолошких процеса у организму, па и у карциногенези.

Кандидат је као циљеве истраживања поставио:

- одредити апоптозу лимфоцита периферне крви болесника оболелих од ХЛЛ-а, као и утврдити потенцијалне узроке промењене апоптозе.
- детерминисати поједине параметре оксидативног стреса који прате саму болест као и евентулане промене узроковане применом терапије.

Методологија рада је врло прецизно и јасно изнета. Истраживањем је обухваћено 50 болесника оболелих од хроничне лимфоцитне леукемије којима је дијагноза утврђена на основу клиничких, лабораторијских и имуно-фенотипских параметара. Испитаници експерименталне групе су били подељени у две основне групе:

А. група оболелих од ХЛЛ-а који нису примали никакву антинеопластичну терапију најмање претходних шест месеци. Групу је сачињавало 30 болесника.

Б. група оболелих од ХЛЛ-а који се тренутно лече неким од модалитета антинеопластичне хемиотерапије терапије. Група је била сачињена од 20 болесника.

Контролну групу (Ц) сачињавало је 30 здравих испитаника сличне полне и старосне структуре.

У дисертацији је јасно наведен општи протокол по коме је истраживање урађено. Наиме, контролној групи (Ц) и групи оболелих од ХЛЛ-а који не примају никакву антинеопластичну терапију (А) узорци периферне крви били су узимани у једном акту, док су оболелима од ХЛЛ-а који тренутно примају антинеопластичну хемиотерапију (Б) узорци периферне крви били узимани у три наврата:

- непосредно пре започињања терапије,
- дан после започињања терапије,
- последњег дана терапије.

Испитаницима свих испитиваних група, после центрифугирања периферне крви којој је додат антикоагуланс, издвајана је плазма у којој су одређивани маркери оксидативног стреса и цитокини. Такође су испитаницима свих испитиваних група изоловани лимфоцити периферне крви који су култивисати у *in vitro* условима у трајању од 24 часа и то у медијуму RPMI 1640, као и у медијуму RPMI 1640 уз додаток различитих концентрација циклохексимида, хлорамбуцила и дексаметазона. То су супстанце које су биле коришћене у истраживању као индуктори апоптозе. После завршене култивације издвајан је медијум у коме су били култивисани лимфоцити испитиваних група. У медијуму су били одређивани параметри оксидативног стреса (азотмоноксид, водоникпероксид, супероксид радикал, пероксинитрит и др.) применом стандардних квантитативних лабораторијских поступака, као и концентрације релевантних цитокина применом ЕЛИСА тестова.

Добијени подаци су статистички обрађени и упоређени са резултатима домаћих и страних истраживача.

Резултати рада приказани су врло јасно и на систематичан начин. Спонтана и индукована апоптоза лимфоцита периферне крви оболелих од ХЛЛ-а веће су него у контролној групи. Примена антинеопластичне терапије повећава проценат апоптотичних лимфоцита у култури како непосредно по изолацији ћелија тако и после инкубације. Са опадањем концентрације циклохексимида, хлорамбуцила и дексаметазона смањује се проценат цитотоксичности лимфоцита у *in vitro* условима. Ово истраживање је показало и разлике у концентрацијама појединих маркера оксидативног стреса. Плазматске концентрације малонилдиалдехида и супероксид анјона су веће у болесника оболелих од ХЛЛ-а, концентрација азотмоноксида опада са прогресијом болести, док нема значајних

разлика у плазматској концентрацији водоникпероксида међу тестираним групама. Током примене антинеопластичне терапије смањује се плазматска концентрација малонилдиалдехида и водоникпероксида, док се плазматске концентрације азотмоксида и супероксид анјона не мањају. Параметри оксидативног стреса су одређивани и у супернатантима култура лимфоцита. Истраживање је показало лимфоцити оболелих од ХЛЛ-а продукују веће количине малонилдиалдехида, супероксид анјона и водоник пероксида него лимфоцити здравих испитаника, док нема значајне разлике у лимфоцитној продукцији азотмоксида међу тестираним групама. Додавањем различитих концентрација хлорамбуцила и дексаметазона културама лимфоцита нису детектоване никакве значајне разлике у продукцији свих испитиваних маркера оксидативног стреса међу тестираним групама.

Истраживање је било усмерено и ка одређивању концентрација IL-4, IL-10, IFN- γ и TNf- α , као молекула који могу да модулирају апоптозу лимфоцита. Концентрације ових цитокина су одређиване у плазми и супернатантима култура лимфоцита. Истраживање је показало да су плазматске концентрације ових цитокина веће у групи оболелих од ХЛЛ-а и да корелирају са прогресијом болести. Применом антинеопластичне терапије повећавају се плазматске концентрације IL-4, IFN- γ и TNf- α , док се смањује концентрација IL-10. У супернатантима култура лимфоцита здравих испитаника детектује се већа концентрација IFN- γ и IL-10 него у културама лимфоцита оболелих од ХЛЛ-а, док нема значајне разлике у концентрацијама IL-4 и TNf- α у супернатантима култура лимфоцита тестираних група. Додавањем различитих концентрација хлорамбуцила и дексаметазона у културе лимфоцита, није се детектовала никаква разлика у продукцији IL-4 и TNf- α . Међутим, истраживање је показало да лимфоцити здравих испитаника третирани различитим концентрацијама хлорамбуцила и дексаметазона продукују већу количину IFN- γ и IL-10 и да је та продукција обрнуто пропорционална примењеним концентрацијама ових индуктора апоптозе.

Изнесени закључци су произашли из резултата сопственог истраживања добијених у овом раду.

ОЦЕНА НАУЧНОГ ДОПРИНОСА И ОЦЕНА КАНДИДАТА

У раду је на најсавременији начин испитана спонтана и индукована апоптоза лимфоцита периферне крви као и оксидативни стрес у болесника који болују од хроничне лимфоцитне леукемије. Сам избор проблема којим се кандидат бавио је изузетно значајан на пољу канцерогенезе. Методологија за коју се кандидат одлучио дала му је могућност да дође до веома значајних података, да их опробаним и релевантним статистичким поступцима провери и на основу свега донесе критичке закључке. Ови резултати су плод великог интелектуалног напора, континуираног стручног и научног ангажовања и широке опште медицинске културе као и велике обавештености из леукемогенезе. Добијени резултати представљају значајан допринос нашој медицинској науци и пракси. Кандидат је исказао велику способност за коришћење литературе и научно-истраживачке методологије за научно-истраживачки рад.

На основу изнесених чињеница Комисија са задовољством предлаже Већу за последипломску наставу да прихвати докторску дисертацију "Хронична лимфоцитна леукемија: апоптоза малигно промењених лимфоцита и оксидативни стрес " кандидата др Предрага Ђурђевића, и да покрене поступак, односно одреди место и време за његову јавну одбрану.

У Крагујевцу, 16.10.2006.године

ЧЛАНОВИ КОМИСИЈЕ

1. Проф др Снежана Живанчевић-Симоновић
редовни професор Медицинског факултета у Крагујевцу
(Научна област: Патолошка физиологија), председник

2. Проф др Небојша Арсенијевић
редовни професор Медицинског факултета у Крагујевцу
(Научна област: Микробиологија и имунологија), ментор

3. Проф др Драгица Томин
ванредни професор Медицинског факултета у Београду
(Научна област: Интерна медицина), члан

4. Небојша Анђелковић
доцент Медицинског факултета у Крагујевцу
(Научна област: Интерна медицина), члан

5. Дејан Баскић
доцент Медицинског факултета у Крагујевцу
(Научна област: Микробиологија и имунологија), члан
