

**УНИВЕРЗИТЕТ У КРАГУЈЕВЦУ
МЕДИЦИНСКИ ФАКУЛТЕТ
КРАГУЈЕВАЦ**

1. Одлука Изборног већа Медицинског факултета Универзитета у Крагујевцу

Одлуком Изборног већа Медицинског факултета Универзитета у Крагујевцу, број **01-4387/4-4** од **23. 06. 2010. године**, именовани су чланови Комисије за оцену научне заснованости теме докторске дисертације кандидата **др Ивана Марјановића** под називом:

"Компарација ендоваскуларне и отворене реконструкције анеуризме абдоминалне аорте на основу клиничких, биохемијских и имунолошких параметара"

На основу одлуке Изборног већа, формирана је Комисија у саставу:

1. Проф. др Снежана Живанчевић-Симоновић, редовни професор за ужу научну област: Патолошка физиологија Медицинског факултета Универзитета у Крагујевцу, председник
2. Проф др Миодраг Јевтић, редовни професор за ужу научну област Хирургија Војномедицинске академије у Београду, члан
3. Проф. др Данило Војводић, ванредни професор за ужу научну област: Клиничка физиологија и имунологија Војномедицинске академије у Београду, члан

На основу увида у приложену документацију, Комисија подноси Изборном већу Медицинског факултета у Крагујевцу следећи

ИЗВЕШТАЈ

Кандидат, **др Иван Марјановић**, испуњава све услове предвиђене Законом о високом образовању и Статутом Медицинског факултета у Крагујевцу за израду докторске дисертације.

2.1. Биографија кандидата

А. Лични подаци

Др Иван Марјановић рођен је 04.09.1970.године у Бору, где је завршио основну и средњу школу. На Медицинском факултету у Београду дипломирао је 1995. године са

просечном оценом 8,43 и оценом 10 на дипломском испиту. Специјализацију из Опште хирургије завршио је 2004. године на Војномедицинској академији са одличним успехом. Од 2005. године стално је запослен у Клиници за васкуларну хирургију ВМА, а од 01.01.2006.године налази се на месту Начелника кабинета за васкуларну хирургију ВМА. Ендоваскуларном хирургијом бави се од 2007. године, и један је од пионира развоја ове гране васкуларне хирургије у Србији.

Члан је Удружења васкуларних хирурга Европе (*ESVS*), Удружења кардио-васкуларних хирурга Европе (*ESCVS*) и Краљевског удружења васкуларних хирурга Велике Британије и Ирске. Активни је члан Удружења васкуларних хирурга Србије, Удружења флеболога Србије и Удружења за васкуларну медицину Србије.

У више наврата се усавршавао у иностранству, у великим европским центрима васкуларне хирургије (као што су Осло, Варшава, Амстердам и *St. Mary's* Краљевска болница у Лондону, Центар за реконструкцију аорте).

Б. Научно истраживачки рад

Др Иван Марјановић се кроз свој клинички рад бавио и истраживањима, чије резултате је приказао на неколико међународних и домаћих конгреса и публиковао у два објављена рада у целости. Његови радови су из области васкуларне хирургије, посебно реконструкције анеуризме абдоминалне аорте.

В. Подаци о објављеним радовима

Кандидат др Иван Марјановић остварио је 6,4 бода по основу радова објављених у целини у међународним часописима (3.5 бода) и сажетака на међународним и домаћим научним скуповима (2.9 бодова) бодованих према члану 177. Статута факултета:

- два рада у целини публикована у научним часописима међународног значаја;
- пет радова публикованих у сажетку у зборницима са међународних научних скупова;
- два рада публикована у сажетку у зборницима са домаћих научних скупова.

Од поменутих радова за извештај је релевантан:

1. *Марјановић И., Јевтић М., Мишовић С., Чолић М., Зорановић У., Шарац М., Русовић С., Јовановић М.* Морбидитет и морталитет и раном постоперативном току код елективне реконструкције анеуризме абдоминалне аорте ендоваскуларном и отвореном хируршком техником. Војносанитетски преглед 2010, 67 (8): 665-673. **M24 - 2 бода**

2.2. Наслов, предмет и хипотезе докторске тезе

Наслов:

"Компарација ендоваскуларне и отворене реконструкције анеуризме абдоминалне аорте на основу клиничких, биохемијских и имунолошких параметара"

Предмет:

Анеуризма абдоминалне аорте (ААА) представља патолошко проширење инфрареналног дела аорте за више од 50% њеног лумена. Једини вид лечења ААА представља хируршка реконструкција оболелог сегмента. Све до краја прошлог века, хируршка реконструкција подразумевала је отворену, класичну реконструкцију ААА. Развој ендovasкуларна хирургије, пружио је још једну могућност хируршке реконструкције аорте, при чему прелиминарни резултати светских студија показују да су компликације ове процедуре, као и морбидитет и морталитет пацијента значајније нижи него током отворене реконструкције ААА.

Хипотезе:

1. Болесници код којих је учињена елективна ендovasкуларна реконструкција анеуризме абдоминалне аорте имају лакши постоперативни ток и бржи постоперативни опоравак, мањи број компликација, нижу стопу морталитета, и брже успостављају пуну радну и животну активност,
2. Болесници код којих је учињена елективна ендovasкуларна реконструкција анеуризме абдоминалне аорте имају мање концентрације серумских цитокина у односу на болеснике код којих је учињена отворена елективна хируршка реконструкција ААА.
3. Примена једног контрастног средства у току ендovasкуларне реконструкције ААА не утиче значајно на бубрежну функцију пацијената који су оперисани овом методом.

2.3. Подобност кандидата

Кандидат, Иван Марјановић уписао је другу годину Докторских академских студија школске 2006/2007. године, а усмени докторски испит положио је 12.11.2007. године са оценом 7 (седам). Објавио је два рада у научним часописима са рецензијом у којима је први аутор (од тога један рад у часопису међународног значаја), чиме је испунио услов за пријаву докторске тезе.

2.4. Преглед стања у подручју истраживања

Галектин-3 је лектин са високим афинитетом за β -галактозиде. Овај гликопротеин има различиту дистрибуцију у ћелији и на њу утичу бројни фактори као што су тип ћелије, њен пролиферативни статус и малигна трансформација ћелије. Присутан је у једру, цитоплазми, митохондријама, на површини ћелија, а у секретованом облику налази се и у ткивним течностима. У зависности од локализације и везивањем за различите лиганде регулише ћелијску пролиферацију, диференцијацију и апоптозу. Екстраћелијски, учествује и у адхезивним процесима функционишући као мост између ћелија, као и ћелија и екстрацелуларног матрикса. Сматра се да галектин-3 има значајну улогу и у процесима важним за настанак и развој тумора: малигну трансформацију, инвазију и метастазирање.

Метастазирање тумора представља сложен процес који се дешава каскадно. Мада развој метастаза има насумичан изглед, у основи то је регулисан процес и заснива се на адхезији малигнућ ћелија за васкуларни ендотел. Сматра се да за успешно формирање метастатских колонија важну улогу има везивање циркулишућих малигнућ ћелија за васкуларни ендотел који исказује специфичан сет површинских молекула у различитим органима. Описани су бројни адхезивни молекули који везујући одговарајуће лиганде

на циркулишућим малигним ћелијама омогућују њихово селективно преживљавање. Тиме се објашњава да, иако током дисеминације у циркулацији доспева велики број малигнућих ћелија, ипак само мали проценат ћелија успева да преживи и формира метастазе. Новија истраживања указују да галектин-3 који је конститутивно експримиран на васкуларном ендотелу плућа, игра кључну улогу у почетној адхезији циркулишућих малигнућих ћелија мишјег меланома B16F10 за ендотел плућа. Могућ механизам којим ендотелни галектин-3 доприноси процесима метастазирања подразумева његово везивање за угљенохидратне лиганде на малигним ћелијама. Осим у адхезији, сматра се да галектин-3 има удео и у другим процесима важним за успешно формирање метастаза. Наиме, показано је да он инхибира апоптозу туморских ћелија чиме се објашњава њихова резистенција на хемо- и радиотерапију. Такође, бројне студије указују на значајну улогу галектина-3 и у неоангиогенези јер подстиче пролиферацију и миграцију ендотелних ћелија. Међутим, улога галектина-3 у регулацији метастаза *in vivo* није испитивана.

Основни механизам имунског одговора против тумора је убијање туморских ћелија механизмима ћелијског стеченог имунитета, као и механизмима урођеног имунитета. Иако је галектин-3 експримиран на различитим ћелијама имунског система: на макрофагама, дендритским ћелијама, еозинофилима, мастоцитима, активираним Т и В лимфоцитима, мало се зна о његовој улози у анти-туморском одговору. Новије студије указују да овај молекул утиче на преживљавање и функционисање ефекторских Т лимфоцита у околини тумора. Показано је да индукује апоптозу тумор-инфилтришућих лимфоцита у хуманом малигнућем меланому, као и тумор-специфичних CD8⁺Т лимфоцита у мишјем моделу колоректалног карцинома. Поред апоптозе, Demotte N. и сарадници указују да галектин-3 повећавањем растојања између Т-ћелијског рецептора и корецептора CD8 индукује анергију тумор-специфичних цитотоксичких Т лимфоцита. Претпоставља се да овај молекул испољава имуномодулаторни ефекат и у урођеном имунском одговору. Резултати истраживања MacKinnon AC. и сарадника указују да галектин-3 везујући CD98 молекул стимулише продукцију IL-4 и IL-13 и тиме индукује алтернативну активацију макрофага. Бројне студије су показале да алтернативно активирани макрофаги у туморском ткиву (познати и као TAM2 макрофаги; од енгл. Tumor-associated macrophages 2) продукцијом различитих солубилних фактора супримирају анти-туморски имунски одговор и тиме доприносе бржем расту и метастазирању тумора. NK ћелије као ефекторске ћелије урођеног имунског одговора, такође играју важну улогу у одбрани од слабо имуногених тумора као што је малигни меланом. Бројне студије засноване на амплификацији, деплецији или инхибицији NK ћелија, показале су да ове ћелије имају значајан удео у анти-туморској имуности у мишјем моделу малигнућег меланом. Међутим, улога галектина-3 на туморицидну активност NK ћелија није испитивана. Због свега наведеног, било би од интереса видети какав је број и функција NK ћелија код мишева дефицијентних у експресији галектина-3 пре и током имунског одговора на туморске ћелије и у којој мери контрибуирају у цитотоксичној активности спленоцита.

2.5. Значај и циљ истраживања са становишта актуелности у одређеној научној области

Циљ ове проспективне клиничке студије је упоредна анализа клиничких, биохемијских и имунолошких параметара код пацијената са анеуризмом абдоминалне аорте код којих је реконструкција урађена ендоваскуларним или отвореним приступом. Сагласно општем циљу, постављени су следећи задаци:

1. Компарација клиничког тока, дужине хоспитализације, присуства и одсуства коморбидитета и морталитета, као и успостављање пуне радне и животне активности код пацијента код којих је урађена ендоваскуларна и отворена хируршка реконструкција анеуризме абдоминалне аорте.

2. Компарација серумских концентрација *Th 1* цитокина (интерлеукина 2, интерферона гама, интерлеукина 12), *Th 2* цитокина (интерлеукина 4, интерлеукина 5, интерлеукина 6, интерлеукина 10), инфламаторних цитокина (интерлеукина 1 бета, као и фактора некрозе тумора алфа и бета) и хемокина (интерлеукина 8)) код пацијента код којих је урађена ендоваскуларна и отворена хируршка реконструкција анеуризме абдоминалне аорте.

3. Одређивање степена нефротоксичности контрастног средства апликованог током ендоваскуларне реконструкције ААА (на основу серумских концентрација уреје, креатинина и калијума).

2.6. Веза истраживања са досадашњим истраживањима

Иако у до сада објављеној и нама доступној светској литератури постоје бројне студије (реализоване у протеклих 5 година) које се баве сличном проблематиком, готово све су поредиле две методе оперативног лечења у клиничком смислу и у погледу укупне цене коштања. У тим студијама потврђено је да је ендоваскуларна реконструкција ААА далеко ефикаснија и квалитетнија по пацијента него класична, отворена еконструкција. Међутим, разлике у патофизиолошким механизмима који прате две врсте оперативног лечења анеуризме абдоминалне аорте (посебно на цитокинском, молекулском нивоу), још су недовољно испитане.

2.7. Методе истраживања

Кандидат је планирао истраживање којим би било обухваћено 40 болесника са анеуризмом абдоминалне аорте (дијагностикованом скенерском ангиографијом), највећег пречника 50 мм или више, тако што би болесници били подељени у 2 кохерентне групе. Прву групу (20 пацијента) сачињавали би болесници код којих би била учињена ендоваскуларна реконструкција анеуризме абдоминалне аорте (комерцијалним, у Србији доступним стент-графтовима), а другу групу (20 пацијента) болесници код којих би била учињена отворена, класична елективна хируршка реконструкција анеуризме абдоминалне аорте. Уважавајући сугестије Комисије за научноистраживачки рад, Комисија је кориговала пријаву рада, израчунавајући број испитаника који је неопходан и довољан да би се између испитиване и контролних група, при нивоу значајности од 0.05 могла добити статистички значајна разлика.

Сходно томе, у студију ће бити укључено 72 пацијената подељених у две групе (по 36 пацијената), а који ће бити елективно оперисани због анеуризме абдоминалне аорте у Клиници за васкуларну хирургију ВМА. Истраживање ће бити обављено у Клиници за васкуларну хирургију ВМА, Институту за радиологију ВМА, Институту за биохемију ВМА и Институту за медицинска истраживања ВМА.

Прву групу сачињаваће 36 болесника код којих је учињена ендоваскуларна реконструкција анеуризме абдоминалне аорте (ЕВАР група), а другу групу 36 болесника који су оперисани отвореном хируршком техником (ОР група).

Сви оперисани ће имати апсолутне индикације за елективну реконструкцију

анеуризме. Пацијенти ће бити сличних анатомских и морфолошких особина анеуризме абдоминалне аорте, сличног животног доба и пола као и придружених обољења. Рандомизација испитаника ће се обавити сходно претходној рандомизационој листи која ће се креирати коришћењем таблице случајних бројева, у односу 1:1. У студију неће бити укључени болесници оперисани као хитни случајеви, због руптуре или претеће руптуре анеуризме абдоминалне аорте.

Испитивани параметри (клинички, биохемијски и инфламаторни) ће бити праћени преоперативно (нултог дана), и у раном постоперативном периоду (првог, другог, трећег и седмог дана после операције). Пацијентима ће, осим стандардних узорака крви који су неопходни за биохемијске анализе које се одређују у преоперативној дијагностици и постоперативном праћењу, у наведеним интервалима бити узето додатних 5 мл венске крви (из периферне вене) за одређивање концентрације серумских цитокина ради процене системског имунског одговора организма.

У клиничком праћењу пацијената ће се одређивати следећи параметри: дужина постоперативне хоспитализације, количина крви која је надокнађена у току операције и у постоперативном периоду, компликације и морталитет.

Од хематолошких и биохемијских параметара код испитаника ће се одређивати: број леукоцита и тромбоцита (у периферној крви), и концентрација урее, креатинина и калијума у серуму (стандардном процедуром, *SMA-12, Technicon*).

Концентрација *Th 1* цитокина (интерлеукина 2, интерферона гама, интерлеукина 12), *Th 2* цитокина (интерлеукина 4, интерлеукина 5, интерлеукина 6, интерлеукина 10), инфламаторних цитокина (интерлеукина 1 бета, фактора некрозе тумора алфа и бета) и хемокина (интерлеукина 8)) у серуму испитаника ће се мерити комерцијалним китовима за проточну цитофлуориметрију (*Bender MedSystems BMS 810 FF, Flow cytomix kit, Human Th1/Th2 MULTIPLEX kit*).

Учешће пацијената у овом испитивању ће бити добровољно, уз њихову писану сагласност да буду укључени у испитивање, и да ће им се узети додатни узорак крви. Клиничко истраживање је одобрено од Етичког комитета Војномедицинске академије дана 21.01.2010. године.

Врста студије

Проспективна клиничка студија

Статистичка обрада

Добијени резултати обрађиваће се основним дескриптивним, као и непараметријским тестовима (*Mann-Whitney U* и *Friedman Test-ом*), као и тестом корелације (*Pearson Chi-Square*). За статистичку анализу свих података биће коришћен статистички софтверски пакет *SPSS for Windows software*.

Прорачун величине узорка је извршен на основу резултата досадашњих сличних студија, за два независна узорка т-теста, употребом одговарајућег статистичког програма (Faul, F., Erdfelder, E., Lang, A.-G., & Buchner, A. (2007). G*Power 3: A flexible statistical power analysis program for the social, behavioral, and biomedical sciences. *Behavior Research Methods*, 39, 175-191.). При томе је вероватноћа алфа грешке установљена на 0.05 док је за снагу студије одабрана вредност од 0.8.

У једној студији је установљено да је средња вредност концентрација једног од цитокина, IL-6, код особа са абдоминалном анеуризмом (Dawson J, Cockerill GW, Choke E, Belli AM, Loftus I, Thompson MM. Aortic aneurysms secrete interleukin-6 into the circulation. *J Vasc Surg*. 2007 Feb;45(2):350-6.) била 4.9 +/- 0.5 pg/ml а код особа без

анеуризме (контрола) 2.7 ± 0.5 pg/ml. Како се у студији очекује да ендоваскуларни поступак изазива мањи инфламаторни одговор претопстављено је да ће такво лечење довести до нормалне или скоро нормалне концентрације IL-6, а да ће концентрација IL-6 код особа са конвенционалним лечењем бити на половини патолошких и нормалних вредности (3.8). Такође је претпостављено значајно веће варирање параметра, за око три пута с обзиром да је наведена SD неуобичајено ниска спрам дате средње вредности (SD, по 1.5). На основу ових података, коришћењем поменутог програма израчунат је узорак од по 31 испитаника.

С обзиром да је очекивана непараметријска расподела података, прорачун дефинитивног узорка је увећан за 15%, дељењем узорка израчунатог за параметарску расподелу са бројем 0.864 (Lehmann EL. *Nonparametrics: Statistical Methods Based on Ranks*, Revised. Pearson Education, 1998). На овај начин је установљен дефинитивни студијски узорак од 72 испитаника односно по 36 у свакој испитиваној групи.

2.8. Очекивани резултати докторске дисертације

Очекује се да ће се на основу концентрација цитокина измерених у овој студији, утврдити да ли постоји разлика у системском одговору организма код два приступа лечењу анеуризме абдоминалне аорте и да ће у предности бити ендоваскуларни елективни приступ, који је, у односу на отворену реконструкцију, значајно мање инвазиван и трауматичан по пацијента. Имајући у виду клиничке, хематолошке, биохемијске и имунолошке параметре, очекује се да ће ова студија недвосмислено указати на предност ендоваскуларне реконструкције AAA у односу на конвенционалну отворену хируршку реконструкцију и да ће бенефит бити веома значајан, како за пацијента (са медицинског и социјалног аспекта), тако и за друштво (са економског аспекта). Сматрамо да је предмет предложеног истраживања актуелан, и да ће добијени резултати бити од значаја за разумевање фундаменталних патофизиолошких механизма, а да ће имати и практични значај у будућем планирању приступа у лечењу пацијената са анеуризмом абдоминалне аорте.

2.9. Оквирни садржај дисертације

У овој докторској дисертацији биће дата анализа клиничких, биохемијских и имунолошких параметара код пацијената са анеуризмом абдоминалне аорте код којих је реконструкција урађена ендоваскуларним или отвореним приступом. Од клиничких параметара код две групе испитаника ће се анализирати дужина хоспитализације, присуство и одсуство коморбидитета и морталитета, као и успостављање пуне радне активности, а од имунолошких параметара серумских концентрација *Th 1* цитокина (интерлеукина 2, интерферона гама, интерлеукина 12), *Th 2* цитокина (интерлеукина 4, интерлеукина 5, интерлеукина 6, интерлеукина 10), инфламаторних цитокина (интерлеукина 1 бета, као и фактора некрозе тумора алфа и бета) и хемокина (интерлеукина 8).

2.10. Научна област дисертације

Медицина. Изборно подручје: Клиничка и експериментална хирургија.

2.11. Научна област чланова комисије

1. Проф. др Снежана Живанчевић-Симоновић, редовни професор за ужу научну област: Патолошка физиологија Медицинског факултета Универзитета у Крагујевцу, председник
2. Проф др Миодраг Јевтић, редовни професор за ужу научну област Хирургија Војномедицинске академије у Београду, члан
3. Проф. др Данило Војводић, ванредни професор за ужу научну област: Клиничка физиологија и имунологија Војномедицинске академије у Београду, члан

Закључак и предлог Комисије

1. На основу досадашњег научно истраживачког рада и публикованих радова кандидат др Иван Марјановић, испуњава све услове прописане Статутом Медицинског факултета и законом о Универзитету за одобрење теме и израду докторске дисертације;
2. Предложена тема је научно оправдана и оригинална, дизајн истраживања прецизно постављен и дефинисан, а научна методологија јасна и прецизна;
3. Комисија сматра да ће докторска дисертација кандидата др **Др Ивана Марјановића** бити од великог научног и практичног значаја, и да ће омогућити да се свеобухватно сагледају разлике између ендоваскуларног и отвореног приступа у лечењу анеуризме абдоминалне аорте.
4. Комисија је размотрила сугестију Комисије за научноистраживачки рад и Изборног већа Медицинског факултета у Крагујевцу која се односила на наслов рада, и сматра да предложени наслов на најбољи начин репрезентује све аспекте планираног истраживања и зато предлаже Изборном већу Медицинског факултета у Крагујевцу да прихвати пријаву теме докторске дисертације кандидата **Др Ивана Марјановића, под насловом "Компарација ендоваскуларне и отворене реконструкције анеуризме абдоминалне аорте на основу клиничких, биохемијских и имунолошких параметара"** и одобри њену израду.

Предлог ментора

За ментора ове докторске тезе Комисија предлаже проф. др Миодрага Јевтића, редовног професора за ужу научну област Хирургија Војномедицинске академије у Београду Проф. др Миодраг Јевтић поседује стручне и научне компетенције које су комплементарне са предметом истраживања и планираном методологијом, као и искуство и остварене резултате у развоју научно-наставног подмлатка.

У Крагујевцу
26.10.2010.године

ЧЛАНОВИ КОМИСИЈЕ

Проф. др Снежана Живанчевић-Симоновић – председник
редовни професор Медицинског факултета у Крагујевцу за
ужу научну област Патолошка физиологија

Проф др Миодраг Јевтић – члан
редовни професор Војномедицинске академије у Београду за
ужу научна област Хирургија

Проф. др Данило Војводић – члан,
ванредни професор Војномедицинске академије у Београду
за ужу научну област Клиничка физиологија и имунологија