

УНИВЕРЗИТЕТ У КРАГУЈЕВЦУ
ФАКУЛТЕТ МЕДИЦИНСКИХ НАУКА

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

Одлуком Наставно-научног већа Факултета медицинских наука Универзитета у Крагујевцу, број 01-1523/7-5 од 20.02.2013. год., именовани су чланови Комисије за оцену научне заснованости теме докторске дисертације кандидата др мед. Мирјане Мијушковић под називом:

„Дијагностички значај протеина оштећења бубрега-1 (КИМ-1) и аквапорина 1 (AQP1) код болесника који болују од карцинома светлих ћелија бубрега“

На основу одлуке Наставно-научног већа, формирана је Комисија у саставу:

1. **Доц. др Дејан Петровић**, доцент Факултета медицинских наука Универзитета у Крагујевцу за ужу научну област Интерна медицина, председник;
2. **Проф. Др Новак Миловић**, ванредни професор Медицинског факултета Војномедицинске академије Универзитета одбране у Београду за ужу научну област Урологија, члан;
3. **Проф. др Снежана Церовић**, ванредни професор Медицинског факултета Војномедицинске академије Универзитета одбране у Београду за ужу научну област Патолошка анатомија, члан.

На основу увида у приложену документацију, Комисија подноси Наставно-научном већу Факултета медицинских наука Универзитета у Крагујевцу следећи

ИЗВЕШТАЈ

Кандидат др мед. Мирјана Мијушковић, испуњава све услове предвиђене Законом о високом образовању и Статутом Факултета медицинских наука Универзитета у Крагујевцу за израду докторске дисертације.

2.1. Кратка биографија кандидата

Др Мирјана Мијушковић је рођена 8.07.1970. године у Чачку, где је завршила основну школу и гимназију. Медицински факултет Универзитета у Београду уписала је 1989. год. и дипломирала 1995. год. са просечном оценом током студија 8,50 (осам и 50/100) и оценом 10 (десет) на дипломском испиту. У периоду од 1995. до 1997. год. била је на магистарским студијама на Медицинском факултету Универзитета у Београду из области клиничка и експериментална бактериологија.

Специјализацију из интерне медицине у ВМА уписала је 1997. год. и 24.09.2002. год. положила специјалистички испит са одличним успехом. Од 9.07.2003. год. стално је запослена као лекар специјалиста у Клиници за нефрологију ВМА. Дембра 2006. год. положила је субспецијалистички испит из нефрологије у ВМА.

Школске 2009/2010. год. уписала је докторске академске студије на Факултету медицинских наука Универзитета у Крагујевцу, на предмету експериментална и клиничка интерна медицина, модул нефрологија и положила све програмом студија предвиђене испите, укључујући и усмени докторски испит, који је положила 2.03.2011. са оценом 9 (девет). Децембра 2012. год. изабрана је у звање асистента за предмет интерна медицина на Медицинском факултету ВМА Универзитета одбране. Члан је нефролошке секције СЛД, Удружења нефролога Србије и Европског удружења за нефрологију, дијализу и трансплантацију.

2.2. Наслов, предмет и хипотезе докторске тезе

Наслов:

„ Дијагностички значај протеина оштећења бубрега-1 (KIM-1) и аквапорина 1 (AQP1) код болесника који болују од карцинома светлих ћелија бубрега “

Предмет:

Ова студија ће одређивањем концентрације уринарних биомаркера, KIM-1 и AQP1, код болесника који болују од карцинома светлих ћелија бубрега, утврдити сензитивност и специфичност ових биомаркера за дијагнозу болести.

Хипотезе:

1. Концентрације KIM-1 и AQP1 у урину пацијената са карциномом светлих ћелија бубрега су значајно више преоперативно у односу на њихове концентрације после операције
2. Концентрације KIM-1 и AQP1 у урину пацијената са карциномом светлих ћелија бубрега сразмерне су стадијуму болести према Фурмановој класификацији
3. Концентрације KIM-1 и AQP1 у урину пацијената са карциномом светлих ћелија бубрега су значајно више у поређењу са њиховим концентрацијама у урину здравих особа
4. Постоперативно одржавање повишених концентрација KIM-1 у урину пацијената са парцијалном нефректомијом је последица исхемијског оштећења
5. Концентрација KIM-1 у урину пацијената са карциномом светлих ћелија бубрега сразмерна је његовој експресији у туморском ткиву
6. Одређивање концентрације KIM-1 у урину пацијената са карциномом светлих ћелија бубрега представља сензитиван али недовољно специфичан биомаркер за дијагнозу болести
7. Одређивање концентрације AQP1 у урину пацијената са карциномом светлих ћелија бубрега представља сензитиван и специфичан биомаркер за дијагнозу болести

2.3. Подобност кандидата

Кандидат Мирјана Мијушковић објавила је три рада у целини у научном часопису од међународног значаја, поглавље у књизи, као и већи број сажетака.

Прихваћен јој је рад где је први аутор у часопису од међународног значаја са рецензијом, чиме је испунила услов за пријаву докторске тезе.

Mijušković M, Vavić N, Rusović S, Ignjatović Lj, Obrenčević K, Radojević M, Kovačević Z, Čukić Z, Petrović M, Pilčević D, Pilčević Tadić J, Terzić B. Effect of application of percutaneous transluminal renal angioplasty on renal function in patients with renal artery stenosis-an account of 4 patients. *Vojnosanit Pregl* 2013; 70(4) (in press) (потврда издата 19.06.2012.)

А) Радови штампани у часописима од међународног значаја

1. Ignjatovic Lj, Jovanovic D, Kronja G, Dujic A, Maric M, Ignjatovic D, Hrvacevic R, Kovacevic Z, Petrovic M, Elakovic D, Marenovic T, Lukic Z, Trkuljic M, Stankovic B, Maksic Dj, Butorajac J, Colic M, Draskovic-Pavlovic B, Kapulica-Kuljic N, Drackovic N, Misovic S, Stijelja B, Milovic N, Tosevski P, Filipovic N, Romic P, Jevtic M, Draskovic M, Vavic N, Paunic Z, Radojevic M, Bjelanovic Z, Tomic A, Aleksic P, Kosevic B, Mocovic D, Bancevic V, Magic Z, Vojvodic D, Balint B, Ostojic G, Tukic Lj, Murgic J, Pervulov S, Rusovic S, Sjenicic G, Bucan V, Milavic-Vujkovic M, Jandric D, Raicevic R, **Mijuskovic Mirjana**, et al. Living unrelated donor kidney transplantation-a fourteen-year experience. *Vojnosanit Pregl* 2010; 67 (12):998-1002 (M23=3 бода)
2. Ignjatović Lj, Kovačević Z, Jovanović D, Vavić N, Paunić Z, Radojević M, Rabrenović V, Obrenčević K, **Mijušković M**, Drašković-Pavlović B, Ostojić B, Balint B, Bokonjić D. Our first experiences in applying an original method for removal of ABO-isoagglutinins in ABO-incompatible kidney recipients. *Vojnosanit Pregl* 2009; 66 (2): 117-122. (M23=3 бода)
3. Obrenčević K, Jovanović D, Kovačević Z, Hrvacević R, Ignjatović Lj, **Mijušković M**. Mikofenolat mofetil u kombinaciji sa kortikosteroidima: nova iskustva u terapiji idiopatske retroperitonealne fibroze. *Vojnosanit Pregl* 2007; 64 (6): 385-90. (M52=1.5 бода)

Б) Рад у целини прихваћен за штампу

1. **Mijušković M**, Vavić N, Rusović S, Ignjatović Lj, Obrenčević K, Radojević M, Kovačević Z, Čukić Z, Petrović M, Pilčević D, Pilčević Tadić J, Terzić B. Effect of application of percutaneous transluminal renal angioplasty on renal function in patients with renal artery stenosis-an account of 4 patients. *Vojnosanit Pregl* (in press) (потврда издата 19.06.2012.) (M23=3 бода)

В) Радови штампани као апстрактни с иностраних конгреса (M34)

1. **Mijušković M**, Kovačević Z, Vavić N, Hrvacević R, Paunić Z, Jovanović D, Obrenčević K. Treatment of hemolytic uremic syndrome, review of 9 cases. Proceedings of the VIIIth Congress of the Balkan Cities Association of Nephrology, Dialysis,

- Transplantation and Artificial Organs; Belgrade, 16-19 September 2007 (CN-P-20): 17. (M34=0.5 бода)
2. Ignjatović Lj, Balint B, Hrvačević R, Kovačević Z, Jovanović D, Drašković B, Vavić N, Paunić Z, Rabrenović V, Obrenčević K, **Mijušković M**, et al. One year experience in applying original method for removal of anti-donor blood group antibodies in kidney transplantation across blood group barrier. Proceedings of the VIIIth Congress of the Balkan Cities Association of Nephrology, Dialysis, Transplantation and Artificial Organs; Belgrade, 16-19 September 2007 (TX-0-03): 9. (M34=0.5 бода)
 3. Kandolf-Sekulovic L, **Mijuskovic M**, Rajovic M, Novakovic M, Stefanovic D, Zecevic R. Toxic epidermal necrolysis-like systemic lupus erythematosus. 8th EADV Spring Symposium, Carlsbad, 14-17 April 2011 (CR04.2): 45. (M34=0.5 бода)
 4. Obrencevic K, M. Radojevic, J. Tadic-Pilcevic, Z. Kovacevic, D. Pilcevic, V. Rabrenovic, **M. Mijuskovic**, Z. Cukic. Cytomegalovirus infection, our experiences and analysis in renal transplatation. 10th Congress of the Balkan Cities Association of Nephrology, Dialysis, Transplantation and Artificial Organs, Chalkidiki, 13-15 October 2011 (PP 165): 106. (M34=0.5 бода)
 5. Cukic Z, Vavic N, **Mijuskovic M**, Rabrenovic V, Kovacevic Z, Pilcevic D, Pilcevic Tadic J, Savic D, Petrovic M. Acute intermittent porphyria - diagnostic problem in nephrological practice, with a case report. 10th Congress of the Balkan Cities Association of Nephrology, Dialysis, Transplantation and Artificial Organs, Chalkidiki, 13-15 October 2011 (PP 173):109. (M34=0.5 бода)
 6. Cukic Z, Kovacevic Z, **Mijuskovic M**, Jovanovic D, Terzic B, Savic D, Pilcevic Tadic J, Pilcevic D, Ignjatovic Lj, Rabrenovic V. Arterial hypotension is most common acute complication during hemodialysis. 10th Congress of the Balkan Cities Association of Nephrology, Dialysis, Transplantation and Artificial Organs, Chalkidiki, 13-15 October 2011 (PP 175): 110. (M34=0.5 бода)
 7. Rabrenovic V, Kovacevic Z, Ignjatovic Lj, Jovanovic D, Vavic N, Radojevic M, Petrovic M, **Mijuskovic M**, Pilcevic D, Pilcevic Tadic J. Complications in patients with transplanted kidney who were previously treated by peritoneal dialysis: our 15 years experience (1996-2011). 10th Congress of the Balkan Cities Association of Nephrology, Dialysis, Transplantation and Artificial Organs, Chalkidiki, 13-15 October 2011 (PP 179): 112. (M34=0.5 бода)
 8. Pilcevic D, Maksic D, Paunic Z, Petrovic M, Pilcevic Tadic J, Kovacevic Z, Vavic N, Rabrenovic V, Ignjatovic L, **Mijuskovic M**. Long-term peritoneal dialysis-a case report. 10th Congress of the Balkan Cities Association of Nephrology, Dialysis, Transplantation and Artificial Organs, Chalkidiki, 13-15 October 2011 (PP 189): 117. (M34=0.5 бода)
 9. Pilcevic D, Pilcevic Tadic J, Mitrovic M, Paunic Z, **Mijuskovic M**, Petrovic M, Kovacevic Z, Maksic Đ. Peritoneal dialysis in a patient with recessive dystrophic epidermolysis bullosa-a case report. 10th European Peritoneal Dialysis Meeting, Birmingham, 21-24 October 2011 (P-105): 66. (M34=0.5 бода)
 10. Pilcevic D, Pilcevic Tadic J, Paunic Z, **Mijuskovic M**, Petrovic M, Kovacevic Z, Maksic Đ. Microbiologic profil of CAPD peritonitis-a single centre experience. 10th European

Peritoneal Dialysis Meeting, Birmingham, 21-24 October 2011 (P-108): 67. (M34=0.5 бода)

Г) Радови штампани као апстракти с домаћих конгреса (M64)

1. **Mijušković M**, Čukić Z, Pilčević Tadić J, Obrenčević K, Pilčević D, Petrović M, Ignjatović Lj, Terzić B, Radojević M, Kovačević Z. Primena paratireoidektomije u lečenju sekundarnog hiperparatireoidizma-naša iskustva. Knjiga sažetaka, 2. Kongres nefrologa Srbije, Beograd, 11-14. oktobar 2012, apstrakt P 35: 61. (M64=0.2 бода)
2. Obrenčević K, Jovanović D, Škatarić V, Kovačević Z, **Mijušković M**, Tadić J, Petrović M. Hronična bubrežna insuficijencija kao posledica hemoragijske groznice sa bubrežnim sindromom. Proceedings of the 18th Danube symposium of nephrology conjoined with 1st Congress of the nephrology association of Serbia and Montenegro; Novi Sad, 26-30 septembar 2006, apstrakt PP3: 198. (M64=0.2 бода)
3. Obrenčević K, Jovanović D, Kovačević Z, **Mijušković M**, Škatarić V, Tadić J, Petrović M. Mikofenolat mofetil u kombinaciji sa kortikosteroidima u terapiji idiopatske retroperitonealne fibroze. Proceedings of the 18th Danube symposium of nephrology conjoined with 1st Congress of the nephrology association of Serbia and Montenegro; Novi Sad, 26-30 septembar 2006, apstrakt PP12: 208. (M64=0.2 бода)
4. Kandolf Sekulović L, Mijušković Ž, **Mijušković M**, Zečević R. Nefrogena sistemska fibroza - prikaz slučaja. Zbornik apstrakata, XVI Beogradski dermatološki dani. Beograd, 11-12 novembar 2011, apstrakt PS-23: 36. (M64=0.2 бода)
5. Pilčević Tadić J, **Mijušković M**, Čukić Z, Pilčević D, Obrenčević K, Petrović M, Ignjatović Lj, Terzić B, Kovačević Z. Hemodijaliza u osoba starije životne dobi - naša iskustva. Knjiga sažetaka, 2. Kongres nefrologa Srbije, Beograd, 11-14. oktobar 2012, apstrakt P 15: 51. (M64=0.2 бода)
6. Tadić Pilčević J, **Mijušković M**, Čukić Z, Pilčević D, Obrenčević K, Petrović M, Ignjatović Lj, Terzić B, Kovačević Z. Paratireoidektomija u bolesnice sa mekotkivnim kalcifikacijama – prikaz slučaja. Knjiga sažetaka, 2. Kongres nefrologa Srbije, Beograd, 11-14. oktobar 2012, apstrakt S 3: 78. (M64=0.2 бода)
7. Obrenčević K, Jovanović D, Kovačević Z, Petrović M, Terzić B, Ignjatović Lj, Pilčević D, Pilčević Tadić J, Radojević M, Vavić N, Maksić Đ, **Mijušković M**, Čukić Z. Savremena terapija idiopatske retroperitonealne fibroze. Knjiga sažetaka, 2. Kongres nefrologa Srbije, Beograd, 11-14. oktobar 2012, apstrakt P 1: 44. (M64=0.2 бода)
8. Petrović M, Jovanović D, Ignjatović Lj, Kovačević Z, Obrenčević K, Pilčević D, **Mijušković M**. Rabdomioliza kao uzrok akutne bubrežne insuficijencije – naše iskustvo. Knjiga sažetaka, 2. Kongres nefrologa Srbije, Beograd, 11-14. oktobar 2012, apstrakt P 2: 44. (M64=0.2 бода)
9. Kovačević Z, Veljančić Lj, Radojević M, Paunić Z, Vavić N, Maksić Đ, Obrenčević K, Terzić B, Pilčević Tadić J, Pilčević D, **Mijušković M**, Petrović M, Čukić Z, Rabrenović

V, Jovanović D, Ignjatović Lj. Od adekvatne ka optimalnoj dijalizi – prepreke i putokazi. Knjiga sažetaka, 2. Kongres nefrologa Srbije, Beograd, 11-14. oktobar 2012, apstrakt P 30: 58. (M64=0.2 бода)

10. Pilčević D, Maksić Đ, Paunić Z, Petrović M, Terzić B, Pilčević Tadić J, Obrenčević K, **Mijušković M**, Petrović M, Čukić Z, Kovačević Z. Curenje dijalizata u prednji trbušni zid kao kasna komplikacija kod bolesnice na CAPD programu lečenja – prikaz slučaja. Knjiga sažetaka, 2. Kongres nefrologa Srbije, Beograd, 11-14. oktobar 2012, apstrakt S 30: 91. (M64=0.2 бода)

11. Pilčević D, Maksić Đ, Paunić Z, Terzić B, Petrović M, Pilčević Tadić J, **Mijušković M**, Petrović M, Čukić Z, Kovačević Z. Mikrobiološki profil CAPD peritonitisa kod pacijenata na hroničnom programu lečenja peritoneumskom dijalizom u našem centru – petogodišnja analiza. Knjiga sažetaka, 2. Kongres nefrologa Srbije, Beograd, 11-14. oktobar 2012, apstrakt S 36: 94. (M64=0.2 бода)

Д) Поглавље у књизи

1. **Mijušković M**, Maksić Đ, Jevtić M, Kovačević Z, Hrvačević R, Jovanović D. Mehaničke komplikacije peritoneumske dijalize. In: Maksić Đ, editor. Peritoneumska dijaliza. Beograd: Calibris, 2006: 437–51.

2.4. Преглед стања у подручју истраживања

Карцином бубрега (*RCC - renal cell carcinoma*) као клинички „неми“ малигнитет представља велики светски здравствени проблем. Ова врста тумора чини 3% од укупног броја малигнитета код одраслих, али је његов биолошки потенцијал висок и често са фаталним исходом. Иако се сматра превасходно уролошким проблемом, због присутних системских знакова болести и чињенице да се често открива у савременој нефролошкој пракси, назива се и "интернистичким тумором". Карцином бубрега се састоји из хетерогене групе различитих подтипова, укључујући најчешћи, карцином светлих ћелија бубрега (енг. скраћеница *ccRCC-clear cell carcinoma*) који чини 70% свих карцинома бубрега, папиларни (15%), хромофобни (5%) и неklasификовани карцином бубрега. Ови подтипови се разликују према хистолошким карактеристикама и специфичним генетским мутацијама.

Највећи проценат тумора бубрега открива се случајно током радиолошких испитивања абдомена из различитих дијагностичких разлога. Када се јаве симптоми болести, вероватноћа да већ постоје његове метастазе у лимфним чворовима и другим органима присутна је код 30 до 40% болесника.

За сада, не постоји дијагностички модалитет за рано откривање *RCC*-а изузев случајног радиолошког открића, као ни начин за рано откривање метастаза и праћење ефеката терапије. Одговарајући биомаркери ове болести могли би да имају значајну улогу у дијагнози и праћењу ефеката терапије. Као потенцијални биомаркери са дијагностичким значајем у откривању *ccRCC*-а, издвојили су се протеин оштећења бубрега-1 (*KIM-1 - kidney injury molecule-1*) и аквапорин 1 (*AQP1*).

Протеин оштећења бубрега-1 је тип I трансмембранског протеина, који се састоји се од екстрацелуларног домена, кратког трансмембранског домена и интрацелуларног домена. Под дејством ензима металопроотеиназе, *KIM-1* ектодомен, тежине око 90 *kDa*, може се отцепити и детектовати у урину. Он се не може детектовати у здравом ткиву бубрега, али се експримира у високом нивоу на апикалној мембрани дедиференцираних

проксималних тубуларних ћелија након исхемијског или токсичног оштећења, у хроничним бубрежним болестима: гломерулосклероза, IgA нефропатија, полицистична болест бубрега, дијабетесна нефропатија, као и код пацијенткиња са карциномом светлих ћелија јажника. КИМ-1 се експримира у високом нивоу код пацијената са *ccRCC*, што је удружено са проксималном тубулском ћелијском дедиференцијацијом. Досадашња испитивања указују да је КИМ-1 потенцијално сензитиван али неспецифичан биомаркер за дијагнозу *ccRCC*-а.

Аквапорин 1 је врста аквапорина, фамилије мембранских канала који омогућавају рапидни транспорт воде кроз пермеабилни епител, као што је ренални тубулски епител. До данас, је идентификовано 11 врста аквапорина, при чему је у бубрегу доказана експресија AQP1, AQP2, AQP3, AQP4 и AQP6. За дијагнозу *ccRCC*-а значајан је AQP1. То је 28 kDa тежак протеин који се у високој концентрацији експримира на апикалној и базолатералној страни проксималних тубулских ћелија, подлеже процесу гликозилације и један је од саставних делова уринарних ексозома. Утврђено је да AQP1 може повећати миграцију и метастатски потенцијал туморских ћелија, као и да су неопластички раст и ангиогенеза удружени са повећаном експресијом AQP1. На основу до сада спроведених испитивања, утврђено је да уринарни AQP1 може бити сензитиван и специфичан биомаркер за дијагнозу *ccRCC*-а.

2.5. Значај и циљ истраживања

Циљеви:

1. Анализирати пацијенте према полу, годинама живота, индексу телесне масе (БМИ), навикама у пушењу, бубрежној функцији и присуству симптома паранеопластичног синдрома
2. Одредити концентрације КИМ-1 и AQP1 у урину пацијената са карциномом светлих ћелија бубрега на дан оперативног лечења, 7. и 30. дана након операције
3. Корелирати концентрацију КИМ-1 и AQP1 у урину пацијената са карциномом светлих ћелија бубрега на дан оперативног лечења са стадијумом болести према Фурмановој класификацији
4. Корелирати преоперативне и постоперативне концентрације КИМ-1 и AQP1 у урину пацијената са карциномом светлих ћелија бубрега у зависности од типа оперативног лечења: парцијална или радикална нефректомија
5. Корелирати концентрацију КИМ-1 и AQP1 у урину пацијената са карциномом светлих ћелија бубрега са њиховим концентрацијама у урину здравих особа
6. Корелирати концентрацију КИМ-1 у урину пацијената са карциномом светлих ћелија бубрега на дан оперативног лечења са експресијом КИМ-1 у туморском ткиву
7. Одредити сензитивност и специфичност уринарног КИМ-1 и AQP1 за дијагнозу карцинома светлих ћелија бубрега

Значај:

Резултати ове докторске тезе допринеће утврђивању сензитивности и специфичности KIM-1 и AQP1, као уринарних биомаркера, за постављање дијагнозе карцинома светлих ћелија бубрега. То ће се утврдити поређењем њихових концентрација у урину ових пацијената са концентрацијама у урину здравих особа и пацијената који су оперисали несветлоћелијски карцином бубрега и бенигни тумор бубрега. Корелацијом њихових уринарних концентрација са патолошким стадијумом болести према Фурманов-ој класификацији, добиће се подаци о њиховој повезаности са градусом тумора. Корелацијом преоперативних и постоперативних концентрација KIM-1 и AQP1 у зависности од типа операције (радикална или парцијална нефректомија), добиће се подаци о томе да ли исхемијска лезија код пацијената са парцијалном нефректомијом може утицати на концентрацију ових биомаркера.

Анализом резултата ове студије добиће се додатни подаци о значају ових биомаркера за дијагнозу *ccRCC*-а, с обзиром да за сада о томе не постоје велике проспективне студије.

2.6. Веза са досадашњим истраживањима

Карцином бубрега (*RCC*) је обично клинички нем и често фаталан тумор. За сада, не постоји ни један дијагностички модалитет за рану детекцију болести, осим случајног радиолошког открића. При томе, применом најсавременијих радиолошких техника (компјутеризована томографија, магнетна резонанца), не могу се увек разликовати малигне од немалигних промена, посебно код тумора мањих од 3 цм. Одговарајући биомаркери ове болести могли би да имају значајну улогу у дијагнози болести као праћењу пацијената након операције.

Последњих година издвојили су се два аутори (*Morrissey J.u Han W.* и аутори), који су се бавили испитивањем одређених уринарних биомаркера који би могли да имају значај у дијагнози карцинома светлих ћелија (*ccRCC*), с обзиром да он чини око 90% свих карцинома бубрега. Поред адипофилина и перилипина 2, по свом значају издвојили су се протеин оштећења бубрега-1 (KIM-1) и аквапорин 1 (AQP1).

KIM-1 је сензитиван али неспецифичан биомаркер болести, с обзиром да се повећана концентрација овог биомаркера може јавити код различитих акутних и хроничних бубрежних лезија, као и исхемијско-реперфузионих оштећења. За разлику од њега, AQP1 је означен као сензитиван и специфичан уринарни биомаркер, на чију концентрацију не утичу најчешће бубрежне болести.

2.7. Методе истраживања

А) Врста студије: опсервациона студија случај-контрола („*case/control study*“)

Б) Испитаници: у студију ће бити укључени пацијенти оперативно лечени у Клиници за урологију ВМА, код којих је због дијагностикованог тумора учињена парцијална или радикална нефректомија и патохистолошки доказано постојање *ccRCC*-а. Подаци ће се прикупљати проспективно.

Критеријуми за укључивање:

- патохистолошки постављена дијагноза карцинома светлих ћелија
- потписан формулар информисаног пристанка

Критеријуми за искључивање:

- клиренс креатинина мањи од $60 \text{ ml/min/1,73 m}^2$
- податак да се пацијент лечи или је раније лечен од неког бубрежног обољења
- податак да је пацијент у последњих 10 дана имао контрастно снимање
- пацијенткиње које у историји болести имају податак да су лечене од карцинома светлих ћелија јајника
- повреда протокола студије

В) Метод: код свих пацијената ће на дан операције, 7. и 30. дана након операције бити узет по један узорак првог јутарњег урина и замрзнут на -80°C до тренутка одређивања КИМ-1 и АQP1. Преоперативно ће из једног свежег узорка првог јутарњег урина бити одређен $\beta 2$ -микроглобулин. Свим пацијентима биће узет по један узорак венске крви ради одређивања основних хематолошких и биохемијских анализа: комплетна крвна слика, уреа, креатинин, гликемија, албумини, калијум, калцијум. На основу вредности серумског креатинина применом *CKD-EPI* формуле биће одређен клиренс креатинина. Код свих пацијената ће при пријему на основу анамнестичких података и увидом у историју болести бити узети подаци о полу, животној доби, навикама у пушењу, придруженим болестима (артеријска хипертензија, шећерна болест, хроничне бубрежне болести), као и присуству симптома паранеопластичног синдрома: лумбални бол, макроскопска хематурија, губитак у телесној маси и повишена телесна температура. Преоперативна величина тумора и одсуство/присуство локалних и удаљених метастатских промена биће утврђени мултислајсним скенерским прегледом абдомена и грудног коша. Након оперативног одстрањења тумора методом парцијалне или радикалне нефректомије, од стране патолога биће одређени врста, подтип, градус карцинома бубрега и постоперативни стадијум. Имунохистохемијском анализом, на два репрезентативна узорка туморског ткива (без некрозе), биће одређена ткивна експресија КИМ-1.

Варијабле:

Независне варијабле (узрок):

- Демографске и антропометријске карактеристике пацијента-године живота, пол, телесна маса, телесна висина, БМИ
- Придружене болести: артеријска хипертензија, шећерна болест, хроничне бубрежне болести

- Клинички симптоми и знаци паранеопластичног синдрома: лумбални бол, макроскопска хематурија, губитак у телесној маси, повишена телесна температура, анемија, хиперкалцемија и еритроцитоза
- Неспецифичне лабораторијске анализе: комплетна крвна слика, уреа, креатинин, гликемија, албумини, калијум, калцијум
- Бубрежна функција изражена преко клиренса креатинина
- Величина тумора и одсуство/присуство локалних и удаљених метастатских промена одређени мултислајсним скенерским прегледом грудног коша и абдомена

Зависне варијабле (исход):

- Концентрација КИМ-1 и АQP1 у урину
- Врста оперативног лечења: парцијална и радикална нефректомија
- Врста, подтип, градус карцинома бубрега и постоперативни стадијум.

Снага студије и одређивање величине узорка

Величина узорка студијске популације одрађена је уз помоћ програма *GPower* 3.1.5., на основу следећих података: вероватноћа грешке типа 1 од 0,05 (α), жељена снага студије од 0,8 тј. 80% (1-вероватноћа грешке типа 2). Очекивана разлика међу групама је установљена на основу резултата студије *Han et al.* (14). Израчуната је средња вредност концентрације КИМ-1 у урину код болесника са карциномом бубрега и стандардна девијација ($0.31 \pm 0.43 \text{ ng/ml}$). У контролној групи средња вредност и стандардна девијација концентрације КИМ-1 у урину је била $0.03 \pm 0.05 \text{ ng/ml}$. Имајући у виду да је очекивана разлика међу групама 10 мерних јединица, уз стандардну девијацију мерења тог параметра од једне мерне јединице прорачуната величина узорка је најмање 20 пацијената по групи. Ради сигурности у валидност резултата испитивања, с обзиром да концентрација КИМ-1 варира за 4 мерне јединице од хистолошког типа карцинома бубрега, узорак је увећан за 100%, а величина узорка је 40 пацијената по групи.

Статистичка обрада података

Добијени подаци о концентрацијама КИМ-1 и АQP1 у урину биће корелирани преоперативно, постоперативно, са његовом концентрацијом у урину контролне групе и клиничким карактеристикама пацијената. Концентрација КИМ-1 у урину биће корелирана са његовом експресијом у туморском ткиву. Том приликом, у зависности од добијених резултата, биће коришћени следећи тестови: једнофакторска параметарска анализа варијансе-АНОВА, *Kruskal-Wallis* тест, Студент-ов Т тест, χ^2 тест, тестови линеарне корелације: *Pearson*-ов коефицијент линеарне корелације, *Spearman*-ов коефицијент ранг корелације. За процену сензитивности и специфичности биомаркера биће коришћени логистички регресиони модел и *ROC* крива. Резултати ће бити приказани табеларно и графички.

2.8. Очекивани резултати

Очекујемо да резултати овог истраживања утврде високу сензитивност и специфичност два уринарна биомаркера, КИМ-1 и АQP1, за дијагнозу карцинома светлих ћелија бубрега. С обзиром на доказану сензитивност, али недовољну специфичност КИМ-1, очекујемо да

результати нашег истраживања спроведени на строго дефинисаној групи пацијената (клиренс креатинина већи од $60 \text{ ml/min/1,73 m}^2$, искључење постојања акутне и хроничне бубрежне лезије), покажу већу специфичност овог уринарног биомаркера у односу на до сада спроведене студије. Поређењем врсте оперативног лечења (парцијална или радикална нефректомија), очекујемо да исхемијска лезија код пацијената са парцијалном нефректомијом утиче на одржавање повећаних постоперативних концентрација KIM-1 у урину ових пацијената. Такође, очекујемо да ће уринарне концентрације KIM-1 и AQP1 бити сразмерне патохистолошком градусу карцинома бубрега исказаном према Фурманов-ој класификацији. Очекујемо да ће наши резултати дати додатни допринос за утврђивање дијагностичке улоге KIM-1 и AQP1 код пацијената код којих је на основу клиничких и морфолошких испитивања постављена сумња на постојање карцинома светлих ћелија бубрега.

2.9. Оквирни садржај дисертације

Карцином светлих ћелија бубрега (*ccRCC*) чини око 90% свих карцинома бубрега и најчешће се открива случајно током радиолошког испитивања абдомена из различитих дијагностичких разлога. Када се јаве симптоми болести, вероватноћа да већ постоје његове метастазе у лимфним чворовима и другим органима присутна је код 30 до 40% болесника. Одговарајући биомаркери ове болести могли би да имају значајну улогу у дијагнози и постоперативном праћењу ових пацијената.

Циљ овог истраживања је да се испитивањем сензитивности и специфичности два уринарна биомаркера, KIM-1 и AQP1, утврди њихов значај за дијагнозу *ccRCC-a*. Истраживање ће бити реализовано по типу клиничке опсервационе студије случај-контрола („*case/control study*“) и спровешће се на 40 пацијената оперативно лечених у Клиници за урологију ВМА, код којих је због дијагностикованог тумора учињена парцијална или радикална нефректомија и патохистолошки доказано постојање *ccRCC-a*. Испитивање ће бити спроведено проспективно. Регистроваће се све варијабле и фактори ризика потенцијално значајни за дијагнозу болести, као што су: пол, животна доб, навике у пушењу, придружене болести, БМИ и присуство/одсуство симптома и знакова паранеопластичног синдрома. Код сваког пацијента узимаће се планиране неспецифичне лабораторијске анализе крви и урина и израчунати клиренс креатинина. Концентрација KIM-1 и AQP1 у урину биће одређена *ELISA* методом, а ткивна експресија KIM-1 имунохистохемијском анализом. Контролне групе чиниће здрави испитаници и пацијенти који су у истом периоду праћења оперисали несветлоћелијски карцином бубрега и бенигни тумор бубрега. Добијеним резултатима утврдиће се сензитивност и специфичност наведених уринарних бимаркера, тј. њихов значај за дијагнозу *ccRCC-a*. Тиме би се дао додатни допринос до сада спроведеним испитивањима, с обзиром на непостојање великих популационих студија.

2.10. Предлог ментора

Комисија предлаже за ментора ове докторске дисертације Доц. др Дејана Петровића, доцента Факултета медицинских наука Универзитета у Крагујевцу, за ужу научну област Интерна медицина.

2.11. Научна област дисертације

Медицина. Изборно подручје: Клиничка и експериментална интерна медицина.

2.12. Научна област чланова комисије

1. **Доц. др Дејан Петровић**, доцент Факултета медицинских наука Универзитета у Крагујевцу за ужу научну област Интерна медицина;
2. **Проф. Др Новак Миловић**, ванредни професор Медицинског факултета Војномедицинске академије Универзитета одбране у Београду за ужу научну област Урологија;
3. **Проф. др Снежана Церовић**, ванредни професор Медицинског факултета Војномедицинске академије Универзитета одбране у Београду за ужу научну област Патолошка анатомија.

Закључак и предлог комисије

1. На основу досадашњег успеха на докторским студијама и публикованих радова, др мед. Мирјана Мијушковић, испуњава све услове за одобрење теме и израду докторске дисертације.
2. Предложена тема је научно оправдана, дизајн истраживања је прецизно постављен и дефинисан, а методологија је прецизна и јасна.
3. Комисија сматра да ће предложена докторска дисертација кандидата др мед. Мирјане Мијушковић бити од великог научног и практичног значаја, јер ће добијеним резултатима дати значајан допринос утврђивању дијагностичког значаја два уринарна биомаркера за дијагнозу карцинома светлих ћелија бубрега.
4. Комисија предлаже Наставно-научном већу Факултета медицинских наука у Крагујевцу да прихвати тему докторске дисертације кандидата, др мед. Мирјане Мијушковић под називом: „Дијагностички значај протеина оштећења бубрега-1 (KIM-1) и аквапорина 1 (AQP1) код болесника који болују од карцинома светлих ћелија бубрега“, и одобри њену израду.

ЧЛАНОВИ КОМИСИЈЕ

1. **Доц. др Дејан Петровић**, доцент Факултета медицинских наука Универзитета у Крагујевцу за ужу научну област Интерна медицина, председник
-

2. **Проф. Др Новак Миловић**, ванредни професор Медицинског факултета Војномедицинске академије Универзитета одбране у Београду за ужу научну област Урологија, члан
-

3. **Проф. др Снежана Церовић**, ванредни професор Медицинског факултета Војномедицинске академије Универзитета одбране у Београду за ужу научну област Патолошка анатомија, члан
-

У Крагујевцу, 2.04.2013. год.