

**УНИВЕРЗИТЕТ У КРАГУЈЕВЦУ
МЕДИЦИНСКИ ФАКУЛТЕТ
КРАГУЈЕВАЦ**

**ИЗБОРНОМ ВЕЋУ
МЕДИЦИНСКОГ ФАКУЛТЕТА**

Предмет: Оцена научне заснованости теме докторске дисертације

1. Одлуком Изборног већа Медицинског факултета Универзитета у Крагујевцу број 01-1491/ 3-2 од 02.03.2011. године именована је комисија за оцену научне заснованости теме докторске дисертације под насловом **„Евалуација експресије лептинских (OB-R) и естрогених рецептора у различитим хистопатолошким варијантама „signet-ring cell“ карцинома желуца“** кандидата др Владимира Булатовића, у следећем саставу :

1. Др Љиљана Вучковић-Декић, Научни саветник Института за онкологију и радиологију Србије, ужа научна област: Имунологија и етика науке, председник

2. Проф. др Снежана Јанчић, редовни професор за ужу научну област Патолошка анатомија и Онкологија Медицинског факултета у Крагујевцу-члан

3. Проф. др Мирослав Стојановић, ванредни професор за ужу научну област Хирургија, Медицински факултет Универзитета у Нишу, члан

На основу увида у приложену документацију комисија подноси Изборном већу Медицинског факултета Универзитета у Крагујевцу следећи:

ИЗВЕШТАЈ

Кандидат др Владимир Булатовић, испуњава све услове предвиђене Законом о високом образовању (члан 57) и Статутом Медицинског факултета Универзитета у Крагујевцу (члан 22) за израду докторске дисертације.

2.1. Биографски подаци

а) Лични подаци

Др Владимир Булатовић, рођен 23. децембра 1974. године, завршио је Медицински факултет у Крагујевцу, на којем је био демонстратор на предмету Патолошка анатомија 2005-2007 године. После дипломирања је радио као стручни сарадник у фирми Елефант Ко д.о.о, а затим (мај 2008-октобар 2009) на Медицинском факултету Универзитета у Крагујевцу као инструктор практичне наставе на Патолошкој анатомији. Од 1.11. 2010 ради као клинички лекар у Клиничком центру Крагујевац. Академске докторске студије из области онкологије и положен усмени докторандски испит (са оценом 10) је обавио на Медицинском факултету Универзитета у Крагујевцу. Говори енглески језик.

б) Списак публикованих радова:

Радови објављени у часописима од националног значаја (М 50)

1. **Vladimir Bulatović**, Ivana Maric, Miljan Zindović and Snežana Jančić: "Brunner-oma": hamartoma or tumor? Medicus, 2005; 6(2):92-93 **М 52 1,5 бод**

2. Ivana Marić, Sanja Knežević, **Vladimir Bulatović** and Snežana Jančić: Argiophyl "carcinoid-like" breast cancer. Medicus, 2005; 6(2):71-73 **М 52 1,5 бод**

2.2. Наслов, предмет и хипотеза докторске дисертације.

Наслов

„Евалуација експресије лептинских (OB-R) естрогених рецептора у различитим хистопатолошким варијантама „signet-ring cell“ карцинома желуца“ .

Предмет истраживања

Утврђивање експресије лептинских (OB-R) естрогених рецептора и могућег значаја ових рецептора у различитим хистопатолошким варијантама овог типа малигног обољења желуца, као и утврђивање да ли би хомеоендокрина терапија након гастректомије била оправдана.

Хипотеза

Основна хипотеза је да се ови рецептори различито експримирају у различитим микроморфолошким варијантама „Signet-ring cell“ карцинома, њихова повезаност са муцинохистохемијском експресијом и стромалном фиброзом-дезмоплазијом, као и да би детекција и идентификација нивоа експримираности значајно помогла бољој сагледаности хистогенезе и фенотипских карактеристика овог облика карцинома желуца.

2.3. Подобност кандидата

Према биографији кандидата, његовом основном образовању, вештинама савладаним на местима где је радио, као и завршеним академским докторским студијама са положеним усменим испитом, кандидат је подобан да обави истраживања предвиђена предложеном темом докторске дисертације.

2.4. Преглед стања у подручју истраживања

Карцином желуца "*signet ring cell*" тип има недовољно проучене клиничке карактеристике, неусаглашене хистопатолошке класификације, недефинисане преканцерозне лезије и недовољно проучену хистогенезу. Контраверзни извештаји о присуству естрогених рецептора у ћелијама "*signet ring*" карцинома и саопштења о пролиферативним ефектима лептина на ћелије различитих ткива навели су кандидата да своја истраживања усмери на испитивање експресије естрогених и лептинских рецептора у различитим хистолошким варијантама "*signet ring cell*" карцинома желуца.

2.5. Значај и циљ истраживања

Предложена истраживања имају неколико циљева истраживања:

1. Диференцијација хистолошких варијанти "*signet ring cell*" карцинома
2. Квалитативно и семиквантитативно хистохемијско испитивање епителних муцина
3. Хистохемијско испитивање десмопластичне строме
4. Имунохистохемијско испитивање експресије лептинских рецептора (OB-R) у "*signet ring cell*" карциномима желуца
5. Имунохистохемијско испитивање експресије естрогених рецептора (ER) у "*signet ring cell*" карциномима желуца
6. Испитивање корелације имуноензимске експресије лептинских (OB-R) и естрогених рецептора (ER) у односу на хистолошку варијанту "*signet ring cell*" карцинома
7. Испитивање корелације имуноензимске експресије лептинских (OB-R) и естрогених рецептора (ER) у односу на локализацију "*signet ring cell*" карцинома

8. Испитивање корелације имуноензимске експресије лептинских (OB-R) и естрогених рецептора (ER) у *"signet ring cell"* карциномима у односу на пол и старост испитаника
9. Испитивање међусобног односа имуноензимске експресије лептинских (OB-R) и естрогених рецептора (ER) у *"signet ring cell"* карциномима.

Значај одређивања нивоа експресије лептинских и естрогених рецептора је у томе што би могли допринети бољем разумевању прогресије и агресивности ових тумора желуца. Такође, очекује се да резултати потврде оправданост терапијске стратегије о хемо-ендокриној терапији након гастректомије.

2.6. Веза истраживања са досадашњим истраживањима.

Често контраверзни извештаји о присуству естрогених рецептора у ћелијама *"signet ring cell"* карцинома, сугеришу да је овај тип тумора под утицајем хормонских фактора, па се, мада спорадично, и сврстава у хормон-зависне типове желудачних карцинома, а естрогеном зависнишћу је могуће објаснити и склоност ка брзом метастазирању *"signet ring"* карцинома у оваријуме.

Последњих година се интензивно проучава веза између цитокина лептина, који је повишен код гојазних особа, и развоја малигних тумора . У култури ткива су показани стимулативни ефекти лептина на пролиферацију малигних ћелија карцинома дојке, простате, езофагуса, колона, као и на ћелије хипофизних аденома са инвазивним потенцијалом. Изгледа да лептини имају улогу у хематопоези, репродуктивној контроли, ангиогенези, имуномодулацији, карциногенези и резистенцији на хемотерапију. Ендогени гастрични лептин аутокриним и/или паракриним путем учествује у цитопротективној регулацији желудачне мукозе, у регулацији секреције желудачне киселине и секреције гастричних хормона, као и у модулацији

интестиналног транспорта. Лептински рецептори играју засад необјашњену улогу у прогресији карцинома желуца. Тачан механизам настанка и резултата интеракције лептин-лептински рецептори није разјашњен, али блокирање дејства лептина на рецепторном нивоу се помиње као могућа терапијска стратегија.

Предложена тема ове докторске дисертације се надовезује на публиковане резултате других аутора (в. цитирану литературу), а циљ јој је да бар делимично разјасни контрадикторност у досада објављеној литератури.

2.7. Методе истраживања

Ретроспективном студијом би било обухваћено 80 пацијената оболелих од "*signet ring cell*" карцинома желуца, ендоскопски и оперативно обсервираних у КЦ Крагујевац у периоду од 01.01.2000-01.03.2010 год. Експерименталну групу би чиниле ендоскопске биопсије слузокоже желуца (n = 35) и оперативни материјал ресектованог желуца (n = 45), фиксирани у 10% раствору формалдехида, рутински обрађивани у аутотехникону, калупљени у парафинске блокове, и архивирани у Служби за патологију и судску медицину КЦ Крагујевац. У истраживање би биле укључене и две контролне групе: прву контролу би чинило 15 биопсија ткива са нормалном слузокожом желуца, узетих од пацијената са диспептичним синдромом, а другу 35 биопсија пацијената са аденокарциномом желуца.

За диференцијацију лезија, муцинохистохемијско и имунохистохемијско истраживање би користили препарате добијене са парафинских блокова, дебљине 5 микрометра, на којима би применили следеће методе:

1. Класична HE (hematoxylin-eosin) метода за морфолошку дијагностику и диференцијацију хистопатолошких варијанти "*signet ring cell*" карцинома желуца.

2. Хистохемијске методе за квалитативно испитивање епителних муцина:

а. PAS (*Periodic Acid Schiff*) метода за доказивање неутралних (fukomucina).

б. Интегрисана PAS-AB(pH 2,5) (*Alcian Blue- Periodic Acid Schiff*) метода за диференцијацију неутралних (fukomucina) од киселих муцина (sijalomucina).

ц. HID-AB (pH 2,5) (*High Iron Diamine-Alcian Blue*) за диференцијацију слабо киселих (сијаломуцина) и јако киселих муцина (сулфомуцина).

3. Семиквантитативна анализа епителних муцина би се обележавала на следећи начин:

- асекреција муцина : - (минус)
- секреција муцина у трагу: +/- (плус/минус)
- секреција: + (један плус)
- хиперсекреција муцина: ++ (два плуса)

4. Van Gieson метода за испитивање дезмопластичне стромне реакције

5. Имунохистохемијска ABC метода са анти OB-R и анти ER антителима за испитивање експресије лептинских и естрогених рецептора.

За примењена антитела позитивна ткивна контрола би били ткивни узорци карцинома дојке који су раније вишеструко тестирани и сигурно садрже испитиване антигене. За негативну контролу би се користили исечци ткива код којих би у току имунохистохемијског третмана уместо примарног антитела био коришћен PBS пуфер.

Сва имунохистохемијска бојења ће бити изведена уз контролу квалитета и специфичности применом позитивних и негативних контрола

према пропозицијама UK NEQAS-a (UK National External Quality Assessment for Immunohistochemistry)

За одређивање вредности експресије OB-R и ER користила би се метода „X skora“, која се изражава процентуално на најмање 100, а најбоље 500, преко микрометарске мрежице, избројаних ћелија са следећим нивоима експресије: (- ; 0-5%), (1+; 6-25%), (2++; 26-50%), (3+++; 51-75%) и (4 ++++; 75-100%)

Вредност експресије испитиваних маркера би претстављала проценат имунореактивних ћелија. Затим би била одређена медијана и испитаници би такође били подељени у две групе: они са ниским степеном експресије (процент мањи или једнак вредности медијане) и они са високим степеном експресије маркера (процент већи од вредности медијане).

Добијени подаци ће се статистички анализирати параметарским тестовима (Student-ov t -тест, Kruskal-Wallis-ov тест). Уколико се добију мале вредности примениће се непараметријски тестови (χ^2 и Fisher-ов тест стварне вероватноће). За потврду ће се урадити двосмерна анализа варијансе рангова (Friedman-ов тест). За све анализе ће бити коришћен софтверски пакет SPSS верзија 16.

2.8. Очекивани резултати докторске дисертације

Очекује се да истраживање допринесе:

а) бољем сагледавању још увек недефинисане хистогенезе "*signet ring cell*" карцинома;

б) да идентификација нивоа експримираних рецептора буде значајан податак за креирање хемо-ендокрине терапије након гастректомије, односно да резултати подрже терапијску стратегију о блокирању дејства естрогена и лептина на рецепторском нивоу;

ц) бољем разумевању прогресије и агресивности ових тумора на основу нивоа експресије рецептора као значајног параметра.

2.9. Оквирни садржај дисертације

Због недовољно проучених клиничких карактеристика, неусаглашених хистопатолошких класификација, недефинисане преканцерозне лезије и недовољно проучене хистогенезе "*signet ring cell*" карцинома желуца је још увек велика енигма. Контраверзни извештаји о присуству естрогених рецептора у ћелијама "*signet ring*" карцинома и саопштења о пролиферативним ефектима лептина на ћелије различитих ткива су усмерили ова истраживања на испитивање експресије естрогених и лептинских рецептора у различитим хистолошким варијантама "*signet ring cell*" карцинома желуца. Резултати би могли допринети бољем сагледавању још увек недефинисане хистогенезе "*signet ring cell*" карцинома, идентификацији нивоа експримираних рецептора за креирање хемо-ендокрине терапије након гастректомије, као и бољем разумевању прогресије и агресивности ових тумора на основу нивоа експресије рецептора.

2.10. Име ментора.

Проф. др Снежана Јанчић, редовни професор, предмет: Патолошка анатомија и онкологија, на Медицинском факултету Универзитета у Крагујевцу. Проф. др Снежана Јанчић поседује стручне и научне компетенције које су комплементарне са предметом истраживања и планираном методологијом.

2.11. Научна област дисертације

Онкологија, патохистологија .

2.12. Научна област чланова комисије.

1. Др Љиљана Вучковић-Декић, Научни саветник Института за онкологију и радиологију Србије, ужа научна област: Имунологија и етика науке
2. Проф. др Снежана Јанчић, редовни професор за ужу научну област Патолошка анатомија Медицинског факултета у Крагујевцу
3. Проф. др Мирослав Стојановић, ванредни професор за ужу научну област Хирургија, Медицинског факултета Универзитета у Нишу

Закључак и предлог комисије

На основу података презентованих у тачкама извештаја комисија доноси следећи :

ЗАКЉУЧАК

1. На основу досадашњег научно-истраживачког рада и публикованих радова др Владимир Булатовић испуњава све законске услове за одобрење теме и израду докторске дисертације.
2. Предложена тема је научно оправдана, а ради се о оригиналном научном истраживању које има за циљ испитивање експресије лептинских (OB-R) и естрогених рецептора у различитим хистолошким типовима "*signet ring cell*" карцинома желуца,
3. Комисија сматра да ће докторска теза др Владимира Булатовића расветлити неке хистогенетске дилеме које ће истовремено омогућити и боље разумевање фенотипских карактеристика "*signet ring cell*" карцинома.
4. Предложена тема ће представљати солидну основу за евентуалну примену хемо-ендокрине терапијске стратегије о блокирању дејства естрогена и лептина на рецепторном нивоу.

Комисија предлаже Изборном већу Медицинског факултета у Крагујевцу да прихвати тему докторске дисертације кандидата др Владимира Булатовића под називом „**Евалуација експресије лептинских (OB-R) и естрогених рецептора у различитим хистопатолошким варијантама „signet-ring cell“ карцинома желуца**“ .

Чланови комисије :

1. **Др Љиљана Вучковић-Декић**, Научни саветник Института за онкологију и радиологију Србије, ужа научна област: Имунологија и етика науке - председник комисије:

2. **Проф. др Снежана Јанчић**, редовни професор за ужу научну област Патолошка анатомија и онкологија, Медицинског факултета у Крагујевцу -члан:

2. **Проф. др Мирослав Стојановић**, ванредни професор за ужу научну област Хирургија, Медицинског факултета Универзитета у Нишу - члан :

У Крагујевцу 24.03.2011

