

УНИВЕРЗИТЕТ У КРАГУЈЕВЦУ
ФАКУЛТЕТ МЕДИЦИНСКИХ НАУКА
НАСТАВНО-НАУЧНОМ ВЕЋУ

УНИВЕРЗИТЕТ У КРАГУЈЕВЦУ
ФАКУЛТЕТ МЕДИЦИНСКИХ НАУКА
У КРАГУЈЕВЦУ

ПРИМЉЕНО:		06. 09. 2022	
Орг. јед.	Број	Иницијал	Својеручност
05	9255		

1. Одлука Већа за медицинске науке Универзитета у Крагујевцу

На седници Већа за медицинске науке Универзитета у Крагујевцу одржаној дана 12.04.2022. године, одлуком број IV-03-273/22 формирана је Комисија за оцену и одбрану завршене докторске дисертације кандидата др Милоша Станковића под називом „Имуномодулаторни цитокини у каротидној болести”, у следећем саставу:

1. Проф. др Миодраг Ј. Лукић, редовни професор - емеритус Факултета медицинских наука Универзитета у Крагујевцу за ужу научну област Микробиологија и имунологија, председник;
2. Доц. др Бојан Милошевић, доцент Факултета медицинских наука Универзитета у Крагујевцу за ужу научну област Хирургија, члан;
3. НС Нада Пејновић, научни саветник Института за биолошка истраживања „Синиша Станковић“ Универзитета у Београду, Одељење за имунологију, члан.

Комисија је прегледала и проучила докторску дисертацију кандидата др Милоша Станковића и подноси Наставно-научном већу следећи

2. Извештај комисије о оцени научне заснованости теме докторске дисертације

2.1. Опис докторске дисертације

Докторска дисертација др Милоша Станковића под називом “Имуномодулаторни цитокини у каротидној болести” спроведена под менторством проф. др Биљане Љујић, ванредног професора Факултета медицинских наука Универзитета у Крагујевцу за ужу научну област Генетика, представља оригиналну научну студију чији је циљ био одређивање нивоа експресије имуномодулаторних цитокина у системској циркулацији и ткиву каротидног атеросклеротског плака код пацијената подвргнутих каротидној ендартеректомији.

У поглављу Увод, кандидат је на свеобухватан и јасан начин изложио досадашња и актуелна сазнања о атеросклерози и каротидној болести. Кандидат је на прецизан начин цитирајући релевантну литературу представио досадашња сазнања о улози инфламацијских биомаркера у прогнози каротидне болести.

Циљ и хипотезе истраживања јасно су изложени и дефинисани у складу са одобреном пријавом докторске дисертације. Кандидат је у свом истраживању намеравао да одреди степен ткивне експресије IL-33 и ST2 рецептора, ниво циркулишућих IL-10, IL-33 и sST2 код пацијената са каротидном атеросклерозом и њихову повезаност са серумским нивоима

других цитокина и стадијумом каротидне атеросклеротске болести. Главни експериментални задаци су били:

1. Одредити ниво цитокина (IL-33, sST2, IFN- γ , IL-6, TNF- α , IL-17A, IL-23 и IL-10) у системској циркулацији пацијената подвргнутих каротидној ендартеректомији, и здравих особа подударних по полу и старости.
2. Дефинисати и квантификовати стадијум атеросклеротског плака код пацијената подвргнутих каротидној ендартеректомији, одређивањем хистопатолошког скорa за процену тежине болести.
3. Имунохистохемијским бојењима испитати ткивну експресију IL-33 и ST2 у узорцима атеросклеротског плака.
4. Дефинисати и квантификовати инфламаторне промене у узорцима атеросклеротског плака, одређивањем броја и заступљености CD68⁺ ћелија.
5. Одредити ниво биохемијских параметара у системској циркулацији пацијената подвргнутих каротидној ендартеректомији (CRP, холестерол, триглицериди, гликемија).

Постављене су следеће хипотезе:

1. Ниво мерених цитокина у системској циркулацији код пацијената подвргнутих каротидној ендартеректомији је виши у односу на ниво истих цитокина мерених у серуму здравих особа.
2. Постоји позитивна корелација између ткивне експресије IL-33 и ST2 и прогресије атеросклеротског плака односно стадијума болести.
3. Број и заступљености CD68⁺ ћелија, је у позитивној корелацији са стадијумом атеросклеротског процеса.
4. Постоји позитивна корелација између бар неких клиничких, хистолошких и биохемијских варијабли.

Материјал и методе докторске дисертације су детаљно и прецизно описани и у складу су са циљом истраживања. Истраживачка студија је спроведена на узорцима крви и серума добијених од пацијената са атеросклеротском стенозом каротидних артерија, који су подвргнути оперативном лечењу, на Институту за кардиоваскуларне болести „Дедиње“, у складу са одобрењем Етичког Одбора ИКВБ Дедиње. Истраживање је обухватило две стотине узастопних пацијената оболелих од критичне стенозе каротидних артерија узрокованих атеросклеротским плаком. Сви пацијенти су примљени ради планираног хирушког лечења каротидне болести. Контролну групу су чиниле здраве особе, као и болесници са неатеросклеротским обољењем каротидне артерије. Ултразвучни Доплер преглед и СТ ангиографија су урађене преоперативно сваком пацијенту ради процене степена стенозе каротидних артерија. Пацијентима је преоперативно узет узорак крви, ради даљих серолошких тестова, док је операцијом добијен материјал у виду атеросклеротског плака из каротидне артерије. Атеросклеротски плакови који су хирушким путем уклоњени из каротидних артерија оперисаних пацијената користили су се за патохистолошку и имунохистохемијску анализу. Испитивање серумских нивоа следећих цитокина - IFN γ , TNF α , IL-1 β , IL-6, IL-10, IL-17, IL-23, IL-33 смо одређивали употребом hsELISA сетова, специфичним за хумане цитокине.

Резултати истраживања су систематично и јасно приказани.

- Демографске, клиничке и хистолошке карактеристике плака пацијената са каротидном атеросклерозом.
- Хистолошке карактеристике каротидних плакова.

- Серумски нивои цитокина IFN- γ , TNF α , IL-1 β , IL-6, IL-10, IL-17, IL-23 и IL-33 се разликују између СЕА пацијената и здравих контрола.
- Серумски нивои IL-33 и sST2 су повећани код пацијената који су подвргнути каротидној ендартеректомији.
- Експресија ткивног IL-33 и ST2 у различитим врстама атеросклеротских плакова.
- Експресија ткивног интерлеукина 33 и ST2 корелира са инфламацијом у плаку.
- Постоји позитивна корелација између експресије IL-33 у плаку и скоро инфламације.
- Серумски нивои IL-10 су повећани код пацијената који се подвргавају ендартеректомији у поређењу са здравим контролама.
- Нема разлике у серумском нивоу IL-10 код пацијената са различитим клиничким карактеристикама.
- Серумски нивои IL-10 су повезани са хистолошким особинама каротидних плакова.
- Серумске вредности IL-10 у односу на клиничке карактеристике пацијената и у односу на компликованост плака.
- Основне карактеристике пацијената у односу на серумске вредности IL-10.
- Ниво циркулишућег IL-10 се разликује код пацијената са компликованим плаковима од циркулишућег IL-10 код пацијената са некомплицованим плаковима.
- Основне карактеристике пацијената у односу на IFN- γ .
- Серумски нивои IL-10, IFN- γ и IL-33 се разликују између пацијената у односу на присуство или одсуство неуролошких симптома.
- Серумски нивои IFN- γ и IL-10 се разликује између здравих и болесних, у односу на степен каротидне стенозе, стабилност плака, али и у односу на хистолошке карактеристике плака.

У поглављу **Дискусија** детаљно су анализирани и објашњени резултати истраживања. Добијени резултати су дискутовани и упоређивани са литературним подацима из исте области. Коментари резултата овог истраживања су разумљиви и на прегледан начин дискутовани у овом поглављу.

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

Атеросклероза је хронична инфламаторна болест која захвата интиму великих и средњих системских артерија, укључујући аорту, каротидне, коронарне и периферне артерије и манифестује се формирањем атеросклеротских плакова. Атеросклеротски плак омета проток крви тако што сужава лумен крвног суда и последично смањује проток крви дистално од места сужења. Атеросклеротски плакови се деле на стабилне и нестабилне, при чему су од клиничког значаја битнији нестабилни плакови. Нестабилни плак може да руптурира, изазивајући локалну тромбозу или удаљену, што може довести до настајања компликација опасних по живот као што су акутни инфаркт миокарда или исхемијске неуролошке болести. Атеросклероза се може развити и на каротидним артеријама изазивајући стање које се назива каротидна болест. Степен инфламације и фенотип инфилтрисаних имунских ћелија су од пресудног значаја за развој атеросклеротских каротидних плакова. Резултати бројних истраживања сугеришу на повезаност између експресије различитих цитокина у самом атеросклеротском плаку, или њиховог серумског

нивоа и прогресије плака, клиничког исхода и стадијума атеросклеротске болести. Резултати студија показали су да нивои циркулишућих биомаркера инфламације, као што су CRP (енг. C-reactive protein CRP), IL-6, TNF- α и IL-18 имају предиктивни значај за будуће кардиоваскуларне догађаје, нестабилност и повећање дебљине каротидних плакова. Супротно, резултати студија показују да су повишени серумски нивои имуносупресивних и антиинфламаторних цитокина IL-10 и IL-5 у позитивној корелацији са повољним исходом лечења пацијената са акутним коронарним синдромом. Показано је да су и IL-33 и ST2 експримовани у хуамним атеросклеротским плаковима. Резултати клиничких студија показали су да су високи серумски нивои IL-33 у корелацији са већом стопом смртности код пацијената са инфарктом миокарда и ST-елевацијом (СТЕМИ). Поред тога, повећани нивои циркулишућег IL-33 након имплантације коронарног стента позитивно корелирају са коронарном рестенозом стента. Такође, детектована је и повезаност између нивоа IL-33 и тромботских компликација након руптуре плака и прогресије каротидне атеросклерозе код пацијената са реуматоидним артритисом. Упркос све већим доказима који показују да инфламација игра кључну улогу у развоју атеросклеротске болести, прецизни молекуларни и ћелијски механизми стварања каротидног плака и даље су непотпуно разјашњени. У том смислу, циљ овог истраживања је био одређивање серумског нивоа за болест значајних про и анти-инфламаторних и имуносупресивних цитокина са посебним освртом на IL-10, IL-33 и sST2 као и ткивну експресију IL-33 и ST2 рецептора у атеросклеротским плаковима код пацијената подвргнутих каротидној ендартеректомији. Добијени резултати потврђују значај IL-33/ST2 осовине у процесу атеросклерозе и указују на њену дихотомну (проинфламаторну и профибротску која је у неким околностима протективна) функцију у имунском одговору, било као проинфламацијски цитокин у узнапредовалим атеросклеротским лезијама, или као профибротичан, у раним фазама лезија. Серумски IL-10 може бити потенцијални биомаркер за разликовање болесника са каротидном болешћу од здравих особа. Највећи серумски нивои IL-10 детектовани су код пацијената са некомплексним плаковима, док су нижи нивои IL-10 повезани са присуством компликованих плакова.

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

Претрагом доступне литературе прикупљене детаљним и систематским претраживањем биомедицинских база података "Medline", "CoBSON", "PubMed" и "Google Scholar", уз коришћење одоварајућих кључних речи: атеросклероза, каротидна болест, IL-33, sST2, инфламација, нису пронађене студије сличног дизајна. Сходно томе, Комисија констатује да докторска дисертација кандидата др Милоша Станковића под називом "Имуномодулаторни цитокини у каротидној болести" представља резултат оригиналног научног рада.

2.4. Преглед остварених резултата рада кандидата у одређеној научној области

A. Лични подаци

Доктор Милош Станковић рођен је у Крагујевцу 18.01.1978. године. Гимназију у Крагујевцу је завршио 1996. године. Исте године је уписао Медицински факултет Универзитета у Крагујевцу, а основне студије медицине је од 2000. године наставио на Медицинском факултету Универзитета у Београду. Дипломирао је школске 2003. године на Медицинском факултету Универзитета у Београду са просечном оценом 9,34. Од

ноембра 2006. године је стално запослен у Клиничком центру у Крагујевцу као клинички лекар, а од 2008. године као лекар на специјализацији из опште хирургије на Медицинском факултету у Београду. Од 2011. до 2012. године је похађао специјализацију из кардиохирургије на Медицинском факултету у Београду, а од 2013. године је уписан на специјалистичке студије из опште хирургије на Факултету медицинских наука Универзитета у Крагујевцу. Током школске 1998/99. и 1999/2000. учествовао је у настави на предмету Анатомија Медицинског факултета у Крагујевцу као студент- демонстратор. Школске 2013/14. године изабран је у звање сарадник у настави за ужу научну област Хирургија Факултета медицинских наука у Крагујевцу. Тренутно је запослен на Факултету медицинских наука као истраживач приправник. Говори енглески језик.

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

Кандидат је аутор више оригиналних научних радова и први аутор у раду објављеном у часопису индексираном на SCI листи чији су резултати саставни део докторске дисертације, чиме је испунио услов за одбрану докторске дисертације.

Списак радова у часописима:

1. **Stankovic M**, Ljujic B, Babic S, Maravic-Stojkovic V, Mitrovic S, Arsenijevic N, Radak D, Pejnovic N, Lukic ML. IL-33/IL-33R in various types of carotid artery atherosclerotic lesions. *Cytokine*. 2019;120:242-50. **M22**
2. **Stankovic M**, Ljujic B, Radak Dj, Mitrovic S, Babic S, Arsenijevic N, Lukic ML. and Pejnovic N. Circulating IL-10 Levels in Carotid Artery Disease. *Ser J Exp Clin Res*. 2019;20(1):53-63. **M51**
3. Protrka Z, Mitrovic S, Arsenijevic N, Baskic D, Radosavljevic G, **Stankovic M**, Arsenijevic S. HER-2 expression in uterine cervix carcinogenesis. *J BUON*. 2007;12(1):91-7. **M23**

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

Сprovedено истраживање у потпуности је усклађено са пријављеном темом докторске дисертације. Наслов докторске дисертације и спроведеног истраживања се подударају. Циљеви истраживања и примењена методологија су у складу са одобреним у пријави тезе. Докторска дисертација садржи поглавља: Увод, Циљеви студије, Материјал и методе, Резултати, Дискусија, Закључак, Скраћенице и Референце. Написана је на 81 страну и има 14 графикона и 9 табела. Поглавље Референце има 188 цитираних иностраних и домаћих библиографских јединица.

Коришћена литература је адекватна по обиму, садржају и релевантности. Цитирано је 188 научних публикација.

На основу претходно изнетих чињеница, Комисија сматра да завршена докторска дисертација кандидата др Милоша Станковића под називом “**Имуномодулаторни цитокини у каротидној болести**” по обиму и квалитету израде у потпуности одговара пријављеној теми дисертације.

2.6. Научни резултати докторске дисертације

На основу резултата истраживања може се закључити да пацијенти са степеном стенозе каротидне артерије мањим од 70% или већим од 70% се нису разликовали у односу на пол, старост, кардиоваскуларне ризикофакторе изузев хипертензије, неуросимптома и АХА типа плака. Пацијенти са извршеном ендартеректомијом имали су значајно више серумске вредности IL-10 у поређењу са здравим контролама. Серумски ниво IL-10 се значајно разликује између болесника са различитим типовима атеросклеротског плака. Пацијенти са некомпликованим плаком су имали значајно више вредности серумског IL-10 у односу на пацијенте са компликованим плаком, па циркулишући IL-10 може да диференцира болеснике са компликованим плаковима од оних са некомпликованим плаком. Серумски ниво IL-33 и sST2 били су значајно већи у групи пацијента подвргнутих каротидној ендартеректомији у поређењу са здравим испитаницима. Показана је обилна ткивна експресија IL-33 и ST2 у атеросклеротским лезијама каротидне артерије. Ниво експресије IL-33 и IL-33R били су значајно већи код нестабилних плакова и значајно корелирају са степеном инфилтрације инфламацијских ћелија у овим плаковима. Имунохистохемијском анализом је такође откривено да ћелије одговорне за експресију IL-33 нису само мононуклеарне ћелије ограничене на инфламацијске атеросклеротске лезије, већ и глаткомишићне ћелије које су стекле фенотипске карактеристике пенастих ћелија и испуниле се липидним капљицама. Добијени резултати потврђују значај IL-33/ST2 осовине у процесу атеросклерозе и указују на њену дихотомну (проинфламаторну и профибротску која је у неким околностима протективна) функцију у имунском одговору, било као проинфламацијски цитокин у узапредовалим атеросклеротским лезијама, или као профибротичан, у раним фазама лезија. Серумски IL-10 може бити потенцијални биомаркер за разликовање болесника са каротидном болешћу од здравих особа.

2.7. Примењивост и корисност резултата у теорији и пракси

Добијени резултати овог истраживања показују повећано присуство, као и могућу улогу IL-33 у каротидној атеросклерози, јер овај цитокин карактерише прогресивне и нестабилне атеросклеротске плакове. Виши ниво циркулишућег IL-33 код пацијената пре каротидне ендартеректомије у поређењу са здравим појединцима, а такође и његова значајна експресија у узапредовалим атеросклеротским лезијама, недвосмислено указују на позитиван ефекат испитиваног цитокина у смислу промоције атеросклерозе у испитиваним лезијама. Ова студија јасно показује да серумски IL-10 може бити потенцијални биомаркер за разликовање болесника са каротидном болешћу од здравих особа.

2.8. Начин презентовања резултата научној јавности

Резултати ове студије публиковани су као оригинално истраживање у часопису индексираном на SCI листи (категорија M20). Часопис у коме су објављени резултати истраживања је један од водећих часописа из уже научне области кандидата.

Stankovic M, Lujic B, Babic S, Maravic-Stojkovic V, Mitrovic S, Arsenijevic N, Radak D, Pejnovic N, Lukic ML. IL-33/IL-33R in various types of carotid artery atherosclerotic lesions. Cytokine 2019;120:242-50. M22 IF (2019) = 3,396

ЗАКЉУЧАК

Комисија за оцену и одбрану завршене докторске дисертације кандидата др Милоша Станковића под називом “Имуномодулаторни цитокини у каротидној болести” сматра да је истраживање базирано на актуелним сазнањима и одоварајућој методологији и да је прецизно и адекватно постављено и спроведено.

Комисија сматра да докторска дисертација кандидата др Милоша Станковића, под менторством проф. др Биљане Љујић представља оригинални научни допринос у потпунијем сагледавању значаја IL-33/ST2 осовине у процесу атеросклерозе, као и двосмислене функције у имунском одговору, било као проинфламацијског цитокина у узрапредовалим атеросклеротским лезијама, или као профибротичног, у раним фазама лезија.

Комисија са задовољством предлаже Наставно-научном већу Факултета медицинских наука Универзитета у Крагујевцу да докторска дисертација под називом називом “Имуномодулаторни цитокини у каротидној болести” кандидата др Милоша Станковића буде позитивни оцењена и одобрена за јавну одбрану.

ЧЛАНОВИ КОМИСИЈЕ

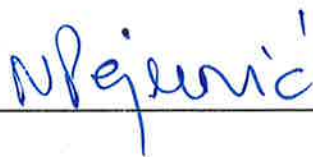
Проф. др Миодраг Л. Лукић, редовни професор - емеритус Факултета медицинских наука Универзитета у Крагујевцу за ужу научну област Микробиологија и имунологија, председник;



Доц. др Бојан Милошевић, доцент Факултета медицинских наука Универзитета у Крагујевцу за ужу научну област Хирургија, члан



НС Нада Пејновић, научни саветник Института за биолошка истраживања „Синиша Станковић“ Универзитета у Београду, Одељење за имунологију, члан



У Крагујевцу, 24.08.2022. године