

**ИЗВЕШТАЈ КОМИСИЈЕ О ОЦЕНИ ЗАВРШЕНЕ
ДОКТОРСКЕ ДИСЕРТАЦИЈЕ**

Одлуком Наставно-научног већа Медицинских наука Универзитета у Крагујевцу број 01-5586/3-37 од 03.06.2015. именовани су чланови комисије за оцену и одбрану докторске дисертације кандидата Др Мирјане Мијушковић под називом „Дијагностички значај протеина оштећења бубрега-1 (КИМ-1) и аквапорина 1 (АQP-1) код болесника који болују од карцинома светлих ћелија бубрега“

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

- 1. Проф. Др Снежана Живанчевић Симоновић**, редовни професор Факултета медицинских наука Универзитета у Крагујевцу за ужу научну област Патолошка физиологија, председник;
- 2. Проф. Др Новак Миловић**, редовни 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.

Комисија је прегледала и проучила докторску дисертацију Др Мирјане Мијушковић и подноси Наставно-научном већу следећи извештај:

ИЗВЕШТАЈ

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

Тема докторске дисертације кандидата Др Мирјане Мијушковић под називом „Дијагностички значај протеина оштећења бубрега-1 (КИМ-1) и аквапорина 1 (АQP-1) код болесника који болују од карцинома светлих ћелија бубрега“ урађене под менторством Проф. др Дејана Петровића, ванредног

професора Факултета медицинских наука у Крагујевцу за ужу научну област Интерна медицина, представља оригиналну и јединствену студију која се бави утврђивањем значаја уринарних биомаркера, протеина оштећења бубрега-1 (KIM-1) и аквапорина 1 (AQP-1) за рану дијагнозу карцинома светлих ћелија бубрега. Инциденца карцинома бубрега показује константан пораст последњих деценија, чинећи приближно 3,8% од укупног броја малигнитета код одраслих. Рана дијагноза у фази орган-ограничене болести удружена је са добром прогнозом, али се овај тип карцинома карактерише одсуством раних симптома и знакова болести, као и лабораторијских абнормалности. С обзиром да светлоћелијски карцином бубрега (сКБ) представља најчешћу метастатску и агресивну форму КБ, неопходни су нови и поуздани дијагностички тестови за откривање болести у преметастатском периоду. Поуздан уринарни тест за сКБ могао би да има значај у скринингу пацијената са високим ризиком за обољевање од ове врсте тумора и као додатни маркер за одговор на терапију и пост-терапијско праћење. До сада спроведена испитивања су показала повећану експресију одређених протеина у туморском ткиву хируршки одстрањених сКБ. На бази потенцијала за уринарну екскрецију ових усходно регулисаних протеина, испитивано је неколико потенцијалних биомаркера од значаја за дијагнозу.

Овој проблематици је кандидат у својој докторској дисертацији приступио на јединствен начин, испитијући дијагностички потенцијал два уринарна биомаркера, протеина 1 оштећења бубрега (*KIM-1*) и аквапорина 1 (*AQP-1*), применом комерцијалних *ELISA* тестова, са посебним акцентом за утврђивање њиховог значаја у дијагностици малих туморских промена и потребе за нормализацијом њихових вредности према концентрацији креатинина у урину.

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

Претрагом литературе прикупљене детаљним и систематским претраживањем биомедицинских база података "*Medline*" и "*CoBSON*" помоћу следећих кључних речи: карцином бубрега, биомаркери, молекул 1 оштећења бубрега, аквапорин 1, дијагноза (*renal cell carcinoma, biomarkers, kidney injury molecul 1, aquaporin 1, diagnosis*) нису пронађене студије сличног дизајна и методолошког приступа. На основу тога Комисија констатује да докторска дисертација кандидата Др Мирјане Мијушковић под називом „**Дијагностички значај протеина оштећења бубрега-1 (KIM-1) и аквапорина 1 (AQP-1) код болесника који болују од карцинома светлих ћелија бубрега**“ представља резултат оригиналног научног рада.

2.3. Преглед остварених резултата рада кандидата у одређеној научној области

А. Лични подаци

Др Мирјана Мијушковић, специјалиста интерне медицине, субспецијалиста нефролог, стално је запослена у Клиници за нефрологију ВМА од 2003. године. Децембра 2012. год. изабрана је у звање асистента за предмет интерна медицина на Медицинском факултету ВМА Универзитета одбране.

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.

Тема докторске дисертације кандидата под називом „**Дијагностички значај протеина оштећења бубрега-1 (KIM-1) и аквапорина 1 (AQP-1) код болесника који болују од карцинома светлих ћелија бубрега**“ прихваћена је 2013. године на Факултету медицинских наука, Универзитета у Крагујевцу.

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

Кандидат др Мирјана Мијушковић, остварила је 19.5 бодова по основу радова објављених у целини у међународном часопису:

- седам радова у целини публикована у научном часопису са "SCI" листе

Mirjana Mijušković, Ivan Stanojević, Novak Milović, Snežana Cerović, Dejan Petrović, Dragan Jovanović, et al. Urinary KIM-1 and AQP-1 in patients with clear renal cell carcinoma: a potential non-invasive biomarkers. Vojnosanit Pregl 2016; 73 (3)–in press (M23=3 бода)

Mirjana Mijušković, Novak Milović, Božidar Kovačević, Dragan Jovanović, Ljiljana Ignjatović, Brankica Terzić, et al. Acquired cystic disease and renal cell carcinoma in hemodialysis patients-a case report on three patients. Vojnosanit Pregl 2015; DOI: 10.2298/VSP140311027M. (M23=3 бода)

Mirjana Mijušković, Neven Vavić, Siniša Rusović, Ljiljana Ignjatović, Katarina Obrenčević, Milorad Radojević, et al. 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): 411–6. (M23=3 бода)

Brankica Terzić, Djoko Maksić, Vesna Škuletić, Dejan Pilčević, Mirjana Mijušković, Zoran Čukić, et al. Myeloma multiplex with pulmonary dissemination. Vojnosanit Pregl 2014; 71(6): 596–9. (M23=3 бода)

*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)*

*Ignjatović Lj, Kovačević Z, Jovanović D, Vavić N, Paunić Z, Radojević M, Rabrenović V, Obrenčević K, **Mijušković M**, et al. 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)*

*Obrenčević K, Jovanović D, Kovačević Z, Hrvačević 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. (M21=1.5 бод)*

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

Наслов докторске дисертације и урађеног истраживања се поклапају. Одобрени циљеви истраживања и постављени циљеви у раду су остали исти. Примењена методологија истраживања је идентична са одобреном.

Докторска дисертација др Мирјане Мијушковић написана је на 130 страна, укључујући библиографске податке и садржи следећа поглавља: увод, хипотезе и циљеве студије, материјал и методе, резултате, дискусију, закључке и литературу. Рад садржи 111 табела и 14 графикона и илустрован је са 21 сликом. Поглавље литература садржи 251 цитирану библиографску јединицу из иностраних стручних публикација.

У поглављу „Увод“, аутор у девет подпоглавља прецизно и детаљно наводи најновије податке о епидемиологији, патофизиологији и молекуларној биологији, класификацији, клиничкој слици, дијагнози, терапији и прогнози карцинома бубрега, са посебним освртом на карцином светлих ћелија бубрега (сКБ). Посебан значај у уводу има подпоглавље Молекуларни маркери значајни за дијагнозу сКБ, где су наведени до сада испитивани уринарни биомаркери значајни за дијагнозу и постоперативно праћење болесника са сКБ, са посебним освртом на протеин оштећења бубрега-1 (*KIM-1*) и аквапорин 1 (*AQP-1*). Детаљно су наведени

результати досадашњих студија у којима су изнети предности и недостаци ова два биомаркера за дијагнозу сКБ.

У другом поглављу јасно су изложени циљеви истраживања као и конкретни задаци који су у складу са постављеним циљевима: утврдити да ли постоји разлика у концентрацији *KIM-1* и *AQP-1* у урину пацијената са сКБ пре и после оперативног лечења, као и у односу на њихову концентрацију у урину здравих особа. Утврдити да ли преоперативна концентрација ова два уринарна биомаркера корелира са величином, градусом и патолошким стадијумом тумора, као и да ли врста оперативног лечења (парцијална или радикална нефректомија) може утицати на постоперативну концентрацију *KIM-1* и *AQP-1*. Коначно, утврдити да ли преоперативна концентрација *KIM-1* корелира са његовом ткивном експресијом, као и дијагностички потенцијал уринарне концентрације *KIM-1* и *AQP-1* за дијагнозу сКБ.

Материјал и методологија рада подударни су са наведеним у пријави дисертације и презентовани на одговарајући начин. Истраживање је дизајнирано као проспективна студија случај/контрола, којом су упоређивани тестирани параметри у експерименталној и контролној групи испитаника. У студију је укључен укупно 41 пацијент са ултразвучно и мултислајсним скенерским прегледом абдомена (*MSCT*) дијагностикованом туморском променом на бубрегу и постављеном индикацијом за оперативно лечење. Сви пацијенти су оперативно лечени применом отворене транслумбалне радикалне или парцијалне нефректомије, а патохистолошком анализом одстрањеног туморског ткива постављена је дијагноза карцинома светлих ћелија бубрега и одређен патохистолошки стадијум тумора према седмој *TNM* међународној класификацији карцинома и градус тумора према *Furhmanov*-ој класификацији карцинома бубрега. Контролну групу чинило је 40 здравих испитаника. Није било статистички значајне разлике између група према полу, годинама живота и бубрежној функцији.

У истраживање нису укључени испитаници са клиренсом креатинина мањим од $60 \text{ ml/min/1,73 m}^2$ израчунатим применом *CKD-EPI* формуле, они који се лече или су лечени од неког бубрежног обољења, малигне болести и шећерне болести тип 1 и 2, пацијенткиње које у историји болести имају податак да су лечене од карцинома светлих ћелија јајника и пацијенти који су у периоду од 10 дана пре узимања узорака урина имали контрастно снимање.

У одељку „Методe“ детаљно су описане све технике коришћене за анализу у студији: временски интервали узорковања урина, обрада и замрзавање на -80°C до тренутка одређивања концентрације *KIM-1*, *AQP-1*, као и примењени *ELISA* комерцијални имуноензимског тестови за њихово одређивање. Такође, детаљно су описане методе макроскопске и микроскопске анализе туморског ткива, са посебним освртом на имунохистохемијско одређивање експресије *TIM-1/KIM-1/HAVCR* антитела у ткивним пресецима. Коначно, прецизно су наведене статистичке методе коришћене за анализу резултата.

Резултати истраживања систематично су приказани и добро документовани са 111 табела, 14 графика и 21 сликом. Генерално, показано је да одређивање концентрације *KIM-1* применом *ELISA* теста код пацијената са сумњом на постојање сКБ има умерен до висок дијагностички потенцијал за овај подтип КБ у зависности да ли су у питању апсолутне или кориговане концентрације биомаркера. При томе његова преоперативна концентрација у урину корелира са величином тумора, патохистолошким стадијумом и градусом тумора. Преоперативно одређивање концентрације *KIM-1* у урину пружа додатну дијагностичку потврду за постојање сКБ. Насупрот томе, одређивање концентрације *AQP-1* у урину применом *ELISA* теста, што је први пут урађено у овом истраживању, показало је да овај биомаркер има низак до умерен дијагностички потенцијал за сКБ, зависно од исказаних концентрација (апсолутне или кориговане према концентрацији креатинина у урину) и одређен на овај начин не може бити поуздан маркер болести.

У поглављу „Дискусија“ анализирани су добијени резултати и поређени са литературним подацима из ове области. Коментари добијених резултата су језгровити, а начин приказивања података чини их прегледним и разумљивим. Резултати су дискутовани у светлу различитих, па и конфликтних података о разликама у сензитивности и специфичности уринарних концентрација *KIM-1* и *AQP-1* за преоперативну дијагнозу сКБ, поредећи њихове преоперативне концентрације у урину са концентрацијом у урину здравих испитаника и постоперативним патохистолошким карактеристима тумора.

На основу претходно изнетих чињеница, Комисија сматра да завршена докторска дисертација под називом „**Дијагностички значај протеина оштећења бубрега-1 (KIM-1) и аквапорина 1 (AQP-1) код болесника који болују од карцинома светлих ћелија бубрега**“ по обиму и квалитету израде у потпуности одговара пријављеној теми дисертације.

2.5. Научни резултати докторске дисертације

Најзначајнији резултати истраживања су садржани у следећим закључцима:

1. Одређивање концентрације *KIM-1* у урину код пацијената са клинички и морфолошки постављеном сумњом на постојање карцинома светлих ћелија бубрега, представља сензитиван и специфичан тест за преоперативну дијагнозу болести.
2. Концентрација *KIM-1* у урину статистички значајно корелира са стадијумом и градусом тумора.

3. Концентрација *KIM-1* у урину пацијената са туморском променом ≤ 4 *cm* је значајно виша у односу на његову концентрацију у урину здравих особа и предстаља додатни дијагностички тест за утврђивање природе малих туморских промена.
4. Поређењем концентрација *KIM-1* у урину израженим у апсолутним и коригованим вредностима, није показана статистички значајна разлика у дијагностичком потенцијалу.
5. Постоперативно повећање концентрације *KIM-1* у урину пацијената са парцијалном нефректомијом је последица исхемијског оштећења.
6. Ткивна експресија *KIM-1* статистички значајно корелира са стадијумом тумора и високо корелира са градусом тумора али без статистичке значајности.
7. Одређивање концентрације *AQP-1* у урину представља недовољно сензитиван и специфичан тест за дијагнозу карцинома светлих ћелија бубрега.

2.6. Примењивост и корисност резултата у теорији и пракси

Добијени резултати истраживања дају оригинални и веома важан допринос бољој дијагностици сКБ, посебно случајно откривених туморских промена промера до 4 *cm*, а у циљу доношења одлуке о потреби за оперативним лечењем. Практични значај ове докторске дисертације је у идентификовању биомаркера у урину као доступном и неинвазивном узорку код оболелих, а који може бити поуздан маркер болести, што у свакодневној пракси има велики значај.

2.7. Начин презентирања резултата научној јавности

Коначни резултати истраживања биће презентовани у форми научних радова, као оригинално истраживање у часописима од међународног значаја.

ЗАКЉУЧАК

Комисија за оцену и одбрану завршене докторске дисертације кандидата др Мирјане Мијушковић под називом **„Дијагностички значај протеина оштећења бубрега-1 (KIM-1) и аквапорина 1 (AQP-1) код болесника који болују од карцинома светлих ћелија бубрега“** на основу свега наведеног сматра да је истраживање у оквиру дисертације адекватно постављено и спроведено.

Комисија сматра да докторска дисертација кандидата др Мирјане Мијушковић урађена под менторством проф. Др Дејана Петровића, има оригинални научни и практични значај у испитивању уринарних биомаркера за дијагнозу карцинома светлих ћелија бубрега.

Комисија са задовољством предлаже Наставно-научном већу Факултета Медицинских наука Универзитета у Крагујевцу да докторска дисертација под називом **„Дијагностички значај протеина оштећења бубрега-1 (KIM-1) и аквапорина 1 (AQP-1) код болесника који болују од карцинома светлих ћелија бубрега“** кандидата др Мирјане Мијушковић буде позитивно оцењена и одобрена за јавну одбрану.

ЧЛАНОВИ КОМИСИЈЕ

1. **Проф. др Снежана Живанчевић Симоновић**, редовни професор факултета медицинских наука Универзитета у Крагујевцу за ужу научну област Патолошка физиологија, председник,
-

2. **Проф. Др Новак Миловић**, редовни 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, 04.06.2015.