

УНИВЕРЗИТЕТ У КРАГУЈЕВЦУ
ФАКУЛТЕТ МЕДИЦИНСКИХ НАУКА
НАСТАВНО-НАУЧНОМ ВЕЋУ

1. Одлука Већа за медицинске науке Универзитета у Крагујевцу

Одлуком Већа за медицинске науке Универзитета у Крагујевцу, број IV-03-1071/24 од 15.11.2016. год, именовани су чланови комисије за оцену научне заснованости теме докторске дисертације кандидата **др мед. Вера Спасојевић Тишме** под називом:

“ Утицај терапије радиоактивним јодом-131 на хематолошке параметре и антиоксидативни статус пацијената са диферентованим карциномом штитасте жлезде“

На основу одлуке Већа за медицинске науке, 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 Драган Ђурић**, редовни професор Медицинског факултета Универзитета у Београду за ужу научну област Физиологија, члан;
3. **Доц. др Олгица Михаљевић**, доцент Факултета медицинских наука Универзитета у Крагујевцу за ужу научну област Патолошка физиологија, члан.

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

ИЗВЕШТАЈ

Кандидат **др мед. Вера Спасојевић Тишма** испуњава све услове предвиђене Законом о високом образовању и Статутом Факултета медицинских наука у Крагујевцу за израду докторске дисертације.

2.1. Биографија кандидата

А. Лични подаци

Вера Спасојевић Тишма рођена је 15.01.1960. године у Земуну. На Медицинском факултету Универзитета у Београду дипломирала је 1986. године. Постдипломске студије је наставила на истом факултету, где је 1995. године одбранила магистарски рад под називом: „Улога слезине у гранулоцитопоези пацова у условима стерилне инфламације“ и стекла академско звање магистра медицинских наука. 1998. године положила је специјалистички испит на Медицинском факултету Универзитета у Београду и стекла стручно звање специјалиста Медицине рада, а 2007. године је полагала и субспецијалистички испит из Радиолошке заштите.

У периоду од 1987. до 1988. године била је запослена у Средњој медицинској школи “Вељко Дугошевић” у Београду. Од 1988. до 2009. године радила је у Институту за нуклеарне науке Винча, у Заводу за радиолошку здравствену заштиту. Од 2009. године запослена је у Јавном предузећу Нуклеарни објекти Србије у Поликлиничкој служби где и данас ради. Члан је организационог одбора Друштва за заштиту од зрачења Србије и Удружења здравствених радника Србије.

Б. Научно-истраживачки рад

Почев од 1998. године, кандидат др мед. Весна Спасојевић Тишма учествовала је на следећим пројектима Министарства за науку: Програм нуклеарне декомисије реактора Института Винча (ВИНД Пограм) и Пројекат одлагања радиоактивног отпада. Од 2008. до 2011. године учествовала је у међународној клиничкој студији одвикавање од пушења „2RST” којом је координисала компанија Swedish Match - Шведска.

2.2. Наслов, предмет и хипотезе докторске тезе

Наслов: “Утицај терапије радиоактивним јодом-131 на хематолошке параметре и антиоксидативни статус пацијената са диферентованим карциномом штитасте жлезде“

Предмет: Основу терапије пацијената са диферентованим карциномом штитасте жлезде (ДТС) чини тотална или скоро тотална тиреоидектомија док се постоперативно

примењује супресивна терапија L-тироксином, и по потреби терапија радиоактивним јодом ^{131}I ради аблације преосталог тиреоидног ткива и јодавидних метастаза.

Иако релативно безбедна терапија ^{131}I има извесна нежељена дејства која су последица радијационог оштећења здравих, малигно неизмењених ткива и индукције оксидативног стреса. Досадашња истраживања су показала да примена радиотерапије код пацијената са различитим врстама карцинома доводи до повећања оксидативног стреса и смањења антиоксидативне заштите. Обзиром да важан сегмент заштите од слободних радикала чине одговарајући антиоксидативни ензими, активност и ниво ових ензима могу утицати како на осетљивост туморских ћелија на радиотерапију, тако и на токсичне споредне ефекте зрачења на здраве ћелије.

Хипотезе: Терапијска примена великих доза ^{131}I (3,7GBq и 5,55GBq) код DTC пацијената доводи до смањења броја целуларних елемената крви (леукоцита, еритроцита, тромбоцита), смањења концентрације хемоглобина и вредности хематокрита, и повећања оксидативног стреса (посматрано кроз промене активности антиоксидативних ензима, концентрацију реактивних кисеоничних врста и ниво липидне пероксидације) како три, тако и седам дана након терапије. Наведене промене најизраженије су седам дана након терапије, после чега следи повратак испитиваних параметара на претерапијске или вредности блиске претерапијским. Степен промена испитиваних параметара корелира са апликованом дозом радиоактивног ^{131}I .

2.3. Испуњеност услова за пријаву теме докторске дисертације

Кандидат, др мед. Вера Спасојевић Тишма, је одбранила магистарски рад под називом: „Улога слезине у гранулоцитопоези пацова у условима стерилне инфламације“ и стекла академско звање магистра медицинских наука 1995. године на Медицинском факултету у Београду. Објавила је рад у целини у часопису са SCI листе, у коме је први аутор, чиме је испунила услов за пријаву докторске дисертације.

Spasojevic-Tisma VD, Celeketic DC, Tisma JM, Milacic SB, Papovic-Djukic GV. Health risk assessment of jobs involving ionizing radiation sources. Nuclear Technology and Radiation Protection 2011; 26(3): 233-236. (M22)

2.4. Преглед стања у подручју истраживања

Карциноми штитасте жлезде представљају најчесталије малигне туморе ендокриног система, од којих 90% чине диферентовани тиреоидни карциноми (папиларни и фоликуларни). Према подацима Института за заштиту здравља „Др Милан Јовановић Батут“ у Београду из 2009. године процењена стопа оболевања од DTC на територији Републике Србије износи 1,6 мушкараца и 5,8 жена на 100 000 становника годишње.

Терапијска примена радиоактивног јода ^{131}I ради аблације постоперативно преосталог ткива штитасте жлезде је део стандардне процедуре лечења оболелих од диферентованих тиреоидних карцинома. 90% терапијског ефекта ^{131}I базира се на емисији β зрачења, а преосталих 10% на емисији γ зрачења. У циљу аблације резидуалног тиреоидног ткива користе се дозе у распону од 1,11 GBq – 3,7 GBq ^{131}I док лечење метастаза или агресивнијих форми болести захтева дозе од 3,7 GBq – 11,1 GBq ^{131}I . Циљ терапије је потпуна елиминација тиреоидног ткива применом најмање могуће дозе радиоактивног јода.

Терапија ^{131}I , иако релативно безбедна, носи изванредан ризик од појаве нежељених ефеката који су последица радијационог оштећења здравих ткива и органа, међу којима су костна срж и периферна крв. Јонизујуће зрачење може деловати на ткива директно (нарушавањем интегритета биомолекула услед јонизације и екситације) или индиректно (формирањем слободних радикала). Неравнотежа између стварања и уклањања слободних радикала резултује настанком оксидативног стреса. Коначни ефекти деловања слободних радикала зависе од одбрамбених способности организма и дејства антиоксидативних ензима и неензимских антиоксиданаса.

Циљ ове студије је испитати утицај високих доза ^{131}I (3,7 GBq и 5,55 GBq) на хематолошке параметре и параметре оксидативног стреса и антиоксидативне заштите у крви пацијената са DTC у току 30 дана од примене ^{131}I .

2.5. Значај и циљ истраживања

Циљ студије је да се код пацијената са диферентованим карциномом штитасте жлезде испитају хематолошки параметри, параметри оксидативног стреса и антиоксидативне заштите пре и након апликације великих доза радиоактивног ^{131}I , те да се

добијене вредности анализирају у односу на дозу апликованог ^{131}I (3,7 и 5,5 GBq), и време протекло од његове примене (3, 7 и 30 дана након терапије).

У складу са овим општим циљем постављени су и следећи специфични циљеви:

Циљ 1. Испитати да ли постоји разлика у хематолошком статусу DTC пацијената пре и након терапије ^{131}I (3, 7 и 30 дана након терапије) и то у: броју леукоцита (Le), броју еритроцита (Er), броју тромбоцита (Tr), вредности хемоглобина (Hgb) и хематокрита (Hct).

Циљ 2. Испитати да ли постоји разлика у активности антиоксидативних ензима код DTC пацијената пре и након терапије ^{131}I (3, 7 и 30 дана након терапије) и то: супероксид дисмутазе (SOD), каталазе (CAT), као и у нивоу редукованог глутатиона (GSH).

Циљ 3. Испитати да ли постоји разлика у концентрацији реактивних врста кисеоника (ROS) код DTC пацијената пре и након терапије ^{131}I (3, 7 и 30 дана након терапије) и то: супероксид анјон радикала ($\text{O}_2^{\cdot-}$), водоник пероксида (H_2O_2) и азот монооксида (NO).

Циљ 4. Испитати да ли постоји разлика у интензитету липидне пероксидације (TBARS) код DTC пацијената пре и након терапије ^{131}I (3, 7 и 30 дана након терапије).

Циљ 5. Испитати да ли постоји корелација између апликоване дозе радиоактивног јода (3,7 и 5,5 GBq) и: промена у хематолошким параметрима, активности антиоксидативних ензима, концентрације реактивних кисеоничних радикала и интензитета липидне пероксидације.

Циљ 6. Испитати да ли постоји корелација између промена хематолошких параметара и интензитета оксидативног стреса код DTC пацијената након терапије радиоактивним јодом током студијског периода од 30 дана.

2.6. Веза истраживања са досадашњим истраживањима

Досадашња истраживања показала су да је код особа са разним врстама карцинома укључујући и диферентоване карциноме штитасте жлезде интензитет оксидативног стреса повећан и пре зрачне терапије. Када је у питању ефекат радиотерапије на оксидативни стрес, до сада публиковани резултати су прилично контрадикторни, те је тако у неким студијама показано повећање оксидативног стреса код пацијената са карциномом након радиотерапије, док је у другим показано његово смањење. Имајући у виду да зрачење може водити

исцрпљењу ендогених резерви антиоксиданаса, циљ предложене студије је да укаже на значај активности антиоксидативних ензима на успех примењене терапије.

2.7. Методе истраживања

2.7.1. Врста студије

Клиничка, опсервациона, аналитичка, проспективна студија – серија случајева

2.7.2. Пацијенти: Истраживање ће обухватити 68 пацијената оба пола, којима је урађена тиреоидектомија, и патохистолошки постављена дијагноза добродиферентованог карцинома штитасте жлезде (папиларни или фоликуларни карцином), а који су након операције упућени у Центар за Нуклеарну медицину Клиничког центра у Крагујевцу ради апликације радиоактивног ¹³¹I.

2.7.3. Узорковање: У студији ће се користити метод случајаног узорка (пацијенти који задовољавају критеријуме за укључивање).

Критеријуми за укључивање пацијената: (1) старост пацијента изнад 18 година, (2) урађена тиреоидектомија, (3) патохистолошки постављена дијагноза ДТС (папиларни или фоликуларни тип, (4) одсуство верификованих удаљених метастаза, (5) хипотиреоидно стање пацијента, концентрација тиреостимулишућег хормона (TSH) >30mIU/L, (6) потписан формулар информисаног пристанка после детаљног информисања пацијента о студији.

Критеријуми за искључивање пацијената: (1) старост пацијента испод 18 година, (2) трудноћа и дојење, (3) позната преосетљивост на препарате јода, депресија костне сржи, (4) смањена функција плућа, (5) поремећај функције пљувачних жлезда, (6) присуство неуролошких оштећења, (7) присуство акутних, хроничних инфламаторних и аутоимунских болести, (8) раније дијагностиковане или лечене малигне болести.

2.7.4. Варијабле

- **Хематолошки параметри:** број еритроцита (Er), број тромбоцита (Tr), број леукоцита (Le), концентрација хемоглобина (Hgb) и вредност хематокрита (Hct). Вредности наведених параметара ће се одређивати аутоматски на анализатору COULTER A^C•T diff Analyzer (Beckman Coulter, Coulter Corporation, Miami, Florida 33196-2500 USA),
- **Активност антиоксидативних ензима:** супероксид дисмутазе (SOD), каталазе (CAT) и редукованог глутатиона (GSH). Ензимска активност SOD биће одређивана као проценат инхибиције аутооксидације адреналина у базној средини. За мерење активности каталазе користиће се метода по Beutler-a у чијој основи је спектрофотометријска анализа брзине разградње водоник пероксида у присуству каталазе на 230 nm. Анализа нивоа редукованог глутатиона засниваће се на способности оксидације глутатиона посредством 5,5 дитио-бис-6,2-нитробензоеве киселине (DTNB) тзв. Ellman-овог реагенса. DTNB реагује са алифатичним тиол једињењима при рН=8.0 стварајући р-нитрофенол анјон жуте боје чији се интензитет може мерити читавањем екстинкције на 412 nm.
- **концентрација реактивних врста кисеоника:** супероксид анјон радикала ($O_2^{\bullet-}$), водоник пероксида (H_2O_2) и азот монооксида (NO). За одређивање концентрације супероксид анјон радикала ($O_2^{\bullet-}$), у крвној плазми користиће се реакција $O_2^{\bullet-}$ са нитротетразолијум плавим до формирања нитроформазан плавог. Одређивање концентрације водоник пероксида (H_2O_2) радиће се по методи Pick and Keisari-a на основу оксидације фенол црвеног применом H_2O_2 у реакцији катализованог пероксидазом. Мерење нитрита, продуката оксидације ендогеног NO, Griss-овом реакцијом послужиће за анализу концентрације азот монооксида ($\bullet NO$) у узорцима крви.
- **интензитет липидне пероксидације (TBARS)** одређиваће се индиректно мерењем концентрације малондиалдехида (MDA) у реакцији са тиобарбитурном киселином.

2.7.5. Снага студије и величина узорка

Студијски узорак је израчунат на основу следећих параметара: вероватноће грешке првог реда алфа од 0,05 и снаге студије од 0,8 за Student-ов t тест (два независна узорка), поредећи групе међу собом (у оба смера), према статистичком програму G*Power3.1.2. На основу претпоставке која захтева највећи узорак (броја тромбоцита након примене различитих доза ^{131}I : 500×10^9 vs. $140 \times 10^9/\text{L}$), односно очекиване најмање разлике у испитиваним параметрима између двеју група пацијената (оних који су примили дозу од 3,7 GBq односно дозу од 5,55 GBq ^{131}I), утврђен је број испитаника према групама и он износи 34 пацијента за сваку од група. Овакав студијски узорак претпоставља утврђивање статистички значајне разлике (Student-ов t тест за два независна узорка или Mann-Whitney тестом у зависности од дистрибуције варијабли) између две групе испитаника, са снагом студије $\geq 80\%$

2.7.6. Статистичка обрада података

Добијени подаци биће анализирани коришћењем статистичког програма SPSS верзија 13. Све вредности биће обрађене методама дескриптивне статистике и приказане као средња вредност \pm стандардна девијација (SD). Тестирање значајности разлика појединих параметара код пацијената третираних истом дозом ^{131}I у различитим временским тачкама вршиће се Т тест-ом за зависне узорке, док ће се разлике вредности параметара код пацијената третираних различитим дозама ^{131}I анализирати Т тест-ом за независне узорке. Резултати ће бити приказани графички и табеларно. Корелисаност варијабли тестираће се тестовима линеарне регресије и корелације (одређивањем Pearson/Spearman-овог коефицијента корелације), а резултати ће графички бити приказани scatter дијаграмом. Разлике међу добијеним вредностима сматраће се статистички значајним уколико је $p < 0,05$.

2.8. Очекивани резултати докторске дисертације

Очекује се да резултати студије укажу да терапијска примена великих доза ^{131}I код DTC пацијената доводи до смањења броја целуларних елемената крви (леукоцита, еритроцита, тромбоцита), смањења концентрације хемоглобина и вредности хематокрита,

и повећања оксидативног стреса (посматрано кроз промене активности антиоксидативних ензима, концентрацију реактивних кисеоничних врста и ниво липидне пероксидације) како три, тако и седам дана након терапије. Имајући у виду полуживот радиоактивног јода ^{131}I ($T_{1/2} = 8.02$) следи да су наведене промене најизраженије седам дана након терапије, после чега се очекује повратак испитиваних параметара на претерапијске или претерапијским блиске вредности.

2.9. Оквирни садржај докторске дисертације

У овој студији ће бити анализиран утицај оксидативног стреса, насталог као последица терапијске примене радиоактивног јода ^{131}I , на хематолошке параметре и активност антиоксидативних ензима (супероксид дисмутаза, каталаза, редукованог глутатиона) код пацијената са диферентованим карциномом штитасте жлезде. Како је упркос великом броју података тачан механизам деловања зрачења код пацијената са ДТС још увек непознат, очекује се да резултати студије покажу да ли различите дозе ^{131}I имају различит ефекат на хематолошке и параметре антиоксидативне заштите, као и да ли врста и корелисаност уочених промена могу да укажу на механизме настанка оксидативног стреса и њихову повезаност са променама хематолошких параметара.

3. Предлог ментора

За ментора ове докторске дисертације Комисија предлаже научног сарадника Ану Тодоровић.

Научни сарадник Ана Тодоровић поседује стручне и научне компетенције које су комплементарне са предметом истраживања и испуњавају услове за ментора докторских дисертација у складу са стандардом 9. за акредитацију студијских програма докторских академских студија на високошколским установама.

3.1 Компетентност ментора

Радови научног сарадника Ане Тодоровић који су у вези са темом докторске дисертације:

1. Pejic SA, **Todorovic AU**, Stojiljkovic VR, Gavrilovic LV, Popovic NM, Pajovic SB. Antioxidant status in women with uterine leiomyoma: relation with sex hormones. *Anais Da Academia Brasileira De Ciencias* 2015; 87(3): 1771-1782.
2. Pejic SA, Stojiljkovic VR, **Todorovic AU**, Gavrilovic LV, Popovic NM, Pavlovic I, Pajovic SB. Antioxidant status in blood of gynaecological patients: influence of diagnosis and reproductive factors. *Folia Biologica* 2015; 61(1): 26-32.
3. **Todorovic AU**, Pejic SA, Stojiljkovic VR, Gavrilovic LV, Popovic NM, Pavlovic I, Saicic ZS, Pajovic SB. Antioxidative enzymes in irradiated rat brain-indicators of different regional radiosensitivity. *Childs nervous system* 2015; 31(12):2249-2256.
4. Pejic SA, Kasapovic JD, **Todorovic AU**, Stojiljkovic VR, Gavrilovic LV, Popovic NM, Pajovic SB. Antioxidative enzymes in women with endometrial polyps: relation with sex hormones. *European journal of obstetrics & gynecology and reproductive biology* 2013; 170(1):241-246.
5. Kasapovic JD, Pejic SA, Stojiljkovic VR, **Todorovic AU**, Radosevic-Jelic LM, Saicic ZS, Pajovic SB. Antioxidant status and lipid peroxidation in the blood of breast cancer patients of different ages after chemotherapy with 5-fluorouracil, doxorubicin and cyclophosphamide. *Clinical biochemistry* 2010; 43(16-17): 1287-1293.
6. Kasapovic JD, Pejic SA, **Todorovic AU**, Stojiljkovic VR, Radosevic-Jelic LM, Pajovic SB. Antioxidant status in breast cancer patients of different ages after radiotherapy. *Archives of biological sciences* 2009; 61(1):23-28.
7. Stojiljkovic VR, **Todorovic AU**, Pejic SA, Kasapovic JD, Saicic ZS, Radlovic NP, Pajovic SB. Antioxidant status and lipid peroxidation in small intestinal mucosa of children with celiac disease. *Clinical biochemistry* 2009; 42(13-14): 1431-1437.
8. Pejic SA, **Todorovic AU**, Stojiljkovic VR, Cvetkovic DD, Lucic N, Radojicic RM, Saicic ZS, Pajovic SB. Superoxide dismutase and lipid hydroperoxides in blood and endometrial tissue of patients with benign, hyperplastic and malignant endometrium. *Anais Da Academia Brasileira De Ciencias* 2008; 80(3): 515-522.
9. Kasapovic JD, Pejic SA, **Todorovic AU**, Stojiljkovic VR, Pajovic SB. Antioxidant status and lipid peroxidation in the blood of breast cancer patients of different ages. *Cell biochemistry and function* 2008; 26(6): 723-730.

10. Pejic SA, Kasapovic JD, **Todorovic AU**, Stojiljkovic VR, Pajovic SB. Lipid peroxidation and antioxidant status in blood of patients with uterine myoma, endometrial polypus, hyperplastic and malignant endometrium. Biological research 2006; 39(4): 619-629.
11. **Todorovic AU**, Kasapovic JD, Pejic SA, Stojiljkovic VR, Pajovic SB. Differences in antioxidative response of rat hippocampus and cortex after exposure to clinical dose of gamma-rays. Annals of the New York Academy of Sciences 2005; 1048: 369-372.
12. Stojiljkovic VR, **Todorovic AU**, Kasapovic JD, Pejic SA, Pajovic SB. Antioxidant enzyme in rat hippocampus after chronic and acute stress exposure. Annals of the New York Academy of Sciences 2005; 1048: 373-376.

4. Научна област дисертације

Медицина. Изборно подручје: Клиничка и експериментална интерна медицина

5. Научна област чланова 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 Драган Ђурић**, редовни професор Медицинског факултета у Београду за ужу научну област Физиологија, члан;
- 3. Доц. др Олгица Михаљевић**, доцент Факултета медицинских наука Универзитета у Крагујевцу за ужу научну област Патолошка физиологија, члан.

Закључак и предлог комисије

На основу досадашњег научно-истраживачког рада кандидат, др мед. Вера Спасојевић Тишма, испуњава све услове за одобрење теме и израду докторске дисертације. Предложена тема је научно оправдана и оригинална, дизајн истраживања прецизно постављен и дефинисан, а научна методологија јасна и прецизна.

Комисија предлаже Научно-наставном већу Факултета медицинских наука Универзитета у Крагујевцу да прихвати тему докторске дисертације кандидата др мед. Вере Спасојевић Тишме, под називом **“Утицај терапије радиоактивним јодом-131 на хематолошке параметре и антиоксидативни статус пацијената са диферентованим карциномом штитасте жлезде“** и одобри њену израду.

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 Драган Ђурић, редовни професор Медицинског факултета Универзитета у Београду за ужу научну област Физиологија, члан

3. Доц. др Олгица Михаљевић, доцент Факултета медицинских наука Универзитета у Крагујевцу за ужу научну област Патолошка физиологија, члан

У Крагујевцу, 16.12.2016.