

УНИВЕРЗИТЕТ У КРАГУЈЕВЦУ
ФАКУЛТЕТ МЕДИЦИНСКИХ НАУКА
НАСТАВНО- НАУЧНОМ ВЕЋУ

УНИВЕРЗИТЕТ У КРАГУЈЕВЦУ
ФАКУЛТЕТ МЕДИЦИНСКИХ НАУКА
У КРАГУЈЕВЦУ

ПРИМЉЕНО:			
Орг. јед.	Број	Датум	Број лист
05	4456-А	05. 06. 2020	

1. Одлука Већа за медицинске науке Наставно научног већа Универзитета у Крагујевцу о формирању комисије за оцену завршене докторске дисертације

На седници Већа за медицинске науке Универзитета у Крагујевцу, одржаној 22.01.2020. године, одлуком бр. 01-16503/3-14, формирана је Комисија за оцену и одбрану завршене докторске дисертације под називом **"Нивои цитокина пре и после хистероскопске полипектомије код инфертилних пацијенткиња"** кандидата др мед Ане Девић у следећем саставу

- 1. Проф. Др Мирјана Варјачић**, редовни професор Факултета медицинских наука Универзитета у Крагујевцу за ужу научну област Гинекологија и акушерство, председник
- 2. Проф. Др Иван Јовановић**, ванредни професор Факултета медицинских наука Универзитета у Крагујевцу за ужу научну област Микробиологија и имунологија и Онкологија, члан
- 3. Проф. Др Младнеко Васиљевић**, редовни професор Медицинског факултета у Београду за ужу научну област Гинекологија и акушерство, члан

Комисија је прегледала и проучила докторску дисертацију Ане Девић и подноси Наставно-научном већу следећи:

ИЗВЕШТАЈ

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

Докторска дисертација кандидата Ане Девић под називом "**Нивои цитокина пре и после хистероскопске полипектомије код инфертилних пацијенткиња**" урађена под менторством Доц. др Марија Шорак, доцент Факултета медицинских наука Универзитета у Крагујевцу за ужу научну област Гинекологија и акушерство представља оригиналну научну студију која се бави испитивањем нивоа цитокина пре и после хистероскопске полипектомије код инфертилних пацијенткиња које имају полип ендометријума као и код инфертилних пацијенткиња без полипа ендометријума. Нивои цитокина су мерени у периферној венској крви пре хистероскопије, месец дана након хистероскопије и у испирку утеруса, који је добијен непосредно пред интервенцију као и у ткиву полипа и ткиву ендометријума, а у циљу утврђивања промена на нивоу ендометријума, код обе групе пацијенткиња. Испитивана су три цитокина: *Glycodelin*, $TNF-\alpha$, $INF-\gamma$ у сва три узорка код обе групе пацијенткиња.

Сав добијени материјал је био прослеђен у лабораторију Клиничког центра Крагујевац-Центар за молекуларну медицину и испитивање матичних ћелија, лабораторија за рад са хуманим материјалом. Применом ELISA методе извршена је детекција и одређивање концентрација наведених цитокина. Периферна венска крв је узета код пацијенткиња експерименталне и контролне групе пре хистероскопске операције и месец дана након операције. Одређивање концентрација цитокина *Glycodelina*, $INF-\gamma$ и $TNF-\alpha$ у узорцима серума је вршено методом *ELISA* (електрохемилуминесценције) уз коришћење стандардних комерцијалних китова (*Elecsys Testosterone II, Roche Diagnostics, Mannheim,*

Germany) на апарату *Elecsys 2010 (112)*. Концентрација цитокина у серуму је изражавана у ng/ml. Сензитивност есеја за цитокине је била 0.025 ng/ml. Коефицијент варијансе за интересеј је износио 3.8%, док је за интраесеј износио 5% .

Према стандардним пропозицијама *UK NEQAS* (UK National External Quality Assessment Scheme for Immunocytochemistry) изведена су сва имунохистохемијска бојења, ткива полипа и ткива ендометријума, уз контролу квалитета и специфичности бојења, а применом позитивних и негативних контрола. Као позитивна контрола за тестирање специфичности примарних антитела коришћени су ткивни узорци за које се сигурно зна да исказују испитиване антигене: исечци ткива плаценте (за *Glycodelin*) и лимфног чвора (за *TNF- α* и *INF- γ*). Третирани су на исти начин као и испитивани узорци у овом истраживању. Као негативна контрола у току имунохистохемијског бојења послужили су узорци ткива третирани индиферентним пуфером који нема афинитет везивања за анализиране антигене. Бојењем је добијена различита експресија епителних ћелија ендометријума пропорционална везивању боје за те ћелије. Семиквантативно смо одредили скор: 0 (0%) – нема сигнала, 1(1-10%) – слаб сигнал, 2(11-50%) – умерен сигнал, 3(51-100%) – висок сигнал.

Основне претпоставке студије су биле да постоје промене у нивоима цитокина пре и после хистероскопијете да је учесталост инфертилитеа већа код пацијенткиња са полипом ендометријума, те да су нивои цитокина већи и у периферној венској крви и у испирку утеруса код пацијенткиња са полипом ендометријума, као и да су експресије цитокина веће код пацијенткиња са полипом ендометријума.

Ендометријални полипи у кавуму утеруса доводе до повећања концентрације ендометријалних протеина и цитокина у испирку материце. Ендометријални полипи утичу на промену нивоа ендометријалних протеина и цитокина током различитих фаза менструалног циклуса. Неуспех имплантације је главни разлог неплодности код здравих жена. Неадекватна рецептивност материце је узрок скоро две трећине неуспелих покушаја имплантације.

Пацијенткиње које имају рекурентне спонтане побачаје имају значајно веће концентрације цитокина, односно повећан ендотоксични фактор у свом ендометријуму и у свом крвотоку.

Код пацијенткиња са полипом ендометријума вредности TNF- α испирку утеруса и серуму могу бити добар скрининг метод за рано откривање постојања ендометријалног полипа.

Код пацијенткиња са полипом ендометријума вредности INF у серуму могу бити добар скрининг метод за откривање пацијенткиња са ендометријалним полипом.

Вредности Gylcodelina у серуму могу бити добар метод за откривање пацијенткиња које немају ендометријални поли, тако да он има инверзну предикцију постојања полипа ендометријума.

Ова докторска дисертација представља оргиналну и значајну студију анализе и дефинисања нивоа цитокина у првој фази менструалног циклуса код пацијенткиња са полипом ендометријума као и код пацијенткиња без полипа ендометријума у серуму и у испирку утеруса, као и експресију тих цитокина у ткиву полипа и ткиву ендометријума. Такође, показано је да се добијене вредности ових цитокина могу искористити као добар скрининг метод за откривање пацијенткиња са ендометријалним полипом, као једним од узрока инфертилитета.

Из свега напред наведеног, Комисија закључује да је положена докторска дисертација оргинални допринос у области Гинекологијеи акушерства,имунологије и онкологије.

2.2. Оцена да је урађена докторска дисертација резултата оргиналног научног рада кандидата у одговарајућој научној области

Прегледом литературе као и увидом у биомедицинске базе података "PubMed", "Medline" и "CoBSon" помоћу кључних речи: "polypus endometrialis", "Cytokines", "Gylcodelin", "TNF α ", "INF γ ", "Hysteroscopy", "endometrijum", "", "infertile patient", "endometrial biopsies", "endometrial receptivity", као и одговарајућом претрагом у домаћој бази часописа "SCI Indeks", наилази се на студије које су се бавиле сличном проблематиком (уз напомену да до сада ниједна није рађена у Србији у области Гинекологије и акушерства) али ниједна није на овакав начин свеобухватно испитивала упоредо више цитокина из три различита узорка и пратила њихове вредности као и промене вредности на новоу ендометријума. На

основу свега наведеног, Комисија констатује да докторска дисертација кандидата Ане Девић "Нови цитокина пре и после хистероскопске полипектомије код инфертилни пацијенткиња", представља резултат оригиналног научног рада.

- 2.3. Преглед остварених резултата рада кандидата у одређеној научној области

А. Лични подаци

Др Ана Девић рођена је 05.04.1974. године у Београду, где је завршила основну школу и гимназију. Медицински факултет Универзитета у Београду завршила је 2000 године. Специјализацију из Гинекологије и акушерства обавила је у КБЦ Земун и ГАК Народни фронт. Специјалистички испит из гинекологије и акушерства је положила 2006. године у Београду, а 2018. године је одбранила рад уже специјализације из Фертилитета и Стерилитета.

Завршила више едукација из специјалистичке области: Југословенску школу за патологију цервикса, вагине, вулве и колпоскопију 2005. године, Школу ултразвука из области гинекологије и акушерства 2005. године, обуку из цитологије 2006 године. Завршила школу из лапароскопије у гинеколошкој онкологији „проф. Давид Гал“, Школу перинатолошког 3D/4D ултразвука. Учесник више стручних скупова, домаћих и међународних конгреса.

Стално запослена у КБЦ Земун у Болници за Гинекологију и акушерство.

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

1. The effect of hysteroscopic polypectomy on the concentrations of tumour necrosis factor- α (TNF- α) in uterine flushings and serum in infertile women

Ana Dević^{1,†}, Mladenko Vasiljević^{2,3,,} Marija Šorak⁴, Aleksandar Dević¹, Ivana Rudić Biljić-Erski³, Goran Zajić⁵

DOI: <https://doi.org/10.2298/SARH191026120D>

2.OVARIAN DYSGERMINOMA Ana Devic1, Mladenko Vasiljevic2, Aleksandar Devic1, Marija Sorak3

3.ANALYSIS OF GLYCODELIN LEVELS BEFORE AND AFTER HYSTEROSCOPIC POLYPECTOMY IN INFERTILE PATIENTS Marija Sorak1*and Ana Devic2*

4.Clin Exp Obstet Gynecol. 2015;42(3):339-43. Recurrence rate of ovarian endometriosis in patients treated with laparoscopic surgery and postoperative suppressive therapy. Dimitrijevic D, Vasiljevic M, Anicic R, Brankovic S, Ristic A, Devic A.

5.ENDOMETRIAL INTRAEPITHELIAL NEOPLASIA □EIN□ IN AN ENDOMETRIAL POLYP Ana Devic1, Mladenko Vasiljevic2, Aleksandar Devic1

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

Назив докторске дисертације, циљеви и примењена методологија истраживања у складу су са пријављеном и одобреном темом докторске дисертације. Докторска дисертација садржи следећа поглавља: Увод, Циљ истраживања, Материјал и методе, Резултати истраживања, Дискусија, Закључци и Литература.

Рад садржи 20 табеле, 18 графикана и 16 слика. У поглављу "Литература" цитирано је 120 библиографске јединице научно-стручних публикација.

У поглављу "Увод" кандидат је врло прецизно, користећи савремене литературне податке изложио досадашња сазнања о етиолошким факторима, дијагностици, морфолошким променама, патофизиологији, клиничкој процени, актуелним методама и предностима.

Наведене су актуелне дефиниције ове компликације засноване на примени различитих маркера уз детаљно описане особине истих, као и калкулатори процене ризика за настанак ове компликације. Такође, детаљно је описана клиничка процена ендометријалне функције, као и преваленца, дијагноза и начин лечења полипа ендометријума код неплодних жена. Детаљно су описане и актуелне методе за унапређивање квалитета ендометријума, као и предности досадашњих дијагностичких метода.

У поглављима "Циљеви" и "Хипотезе", јасно су дефинисани циљеви и хипотезе истраживања као и конкретни задаци који су у складу са постављеним циљевима:

Циљ је био утврдити промене на нивоу ендометријума пре и после хистероскопске полипектомије код инфертилних пацијенткиња са ендометријалним полипом као и код инфертилних пацијенткиња без ендометријалног полипа. Одређиван је ниво цитокина из периферне венске крви пре полипектомије и месец дана након полипектомије код пацијенткиња са полипиом ендометријума као и код пацијенткиња без полипа ендометријума. Потом је одређиван ниво цитокина у испирку утеруса узетог у току хистероскопске полипектоије код обе обе групе пацијенткиња.

Имунохистохемијски је испитиван део ткива полипа и део ендометријалног ткива код инфертилних пацијенткиња са полипом ендометријума као и део ендометријалног ткива код пацијенткиња без полипа ендометријума.

У поглављу "Материјал и методе" прецизно је наведена методологија која је наведена у истраживању а која је подударна са најављеном у пријави дисертације. Истраживање је дизајнирано као проспектив студија. Истраживање је изведено у Гинеколошкој акушерској клиници Народни фронт у Београду. У овој клиничкој студији учествовало је 84 пацијенткиње и то 56 пацијенткиња у генеративном периоду код којих је дијагностикован ендометријални полип као узрок инфертилитета и представљале су експерименталну групу. Поред наведене групе у студији је учествовала и група од 28 пацијенткиња које су у генеративном периоду, а које нису имале ендометријални полип и представљале су контролну групу. Сав добијени материјал је послат у Центар за молекуларну медицину и испитивање матичних ћелија, лабораторија за рад са хуманим материјалом у Крагујевцу, где су и испитивани узорци.

Критеријуми за укључење у експерименталну групу су биле инфертилне пацијенткиње са верификованим ендометријалним полипом у генеративном периоду. Критеријуми за укључење у контролну групу су биле инфертилне пацијенткиње без верификованог ендометријалног полипа у генеративном периоду.

Критеријуми за искључење из студије за обе групе пацијенткиња је било постојање субмукозног миома, ендометриозе, карцинома ендометријума и анормалија утеруса.

Дијагностичко-оперативна хистероскопија извођена је у општој анестезији, у операционој сали са одговарајућом опремом и инструментима. Преоперативна припрема

је обухватала комплетну дијагностику и рутинско узимање потребних анализа: цервикални и вагинални брис, брис цервикса на хламидију, микоплазму и уреоплазму, ПАПА тест, ултразвучни преглед. Одређивана је крвна група, крвна слика и биохемијске анализе уз анестезиолошки преглед и давана је сагласност за оперативно лечење. Оперативни захвати су рађени код инфертилних пацијенткиња до средине пролиферативне фазе-непосредно по завршетку менструалног крварења. Оперативна хистероскопија је извођена коришћењем ресектоскопа који користи биполарну струју. Оперативном хистероскопијом извођена је полипектомија и биопсија ендометријума.

У одељку "Методe" детаљно су описане све технике коришћене за анализу у студији: начин узорковања крви, узимање испирка утеруса, узимање ткива полипа и биопсије ендометријума, обрада и замрзавање узорака до тренутка одређивања нивоа цитокина као и примењена ELISA комерцијални имуноензимски тестови за њихово одређивање и метода имунохистохемије. Такође су описане методе и апарати на којима је вршена анализа и обрада крвне слике и биохемијских параметара. Прецизно су наведене статистичке методе које су коришћене за анализу добијених резултата истраживања.

У поглављу "Резултати" јасно, детаљно и прецизно су изнети резултати истраживања приказани у 20 табела, 18 графикона и 16 слика.

Пацијенти су иницијално били разврстани у две групе: пацијенткиње са дијагностикованим ендометријалним полипом и пацијенткиње без ендометријалног полипа.

У поглављу "Дискусија" детаљно су образложени и упоређени резултати истраживања са доступним савременим стручним подацима из ове области. Резултати су дискутовани у светлу различитих, па и опречних података о факторима ризика за настанак полипа, раним дијагностичким маркерима као и применитерапијских процедура. Добијени резултати недвосмислено указују да полипи доводе до смањене фертилности пацијенткиња, а такође доводе до пивишених вредности цитокина. Такође, јасно су доказане промене у концентрацијама испитиваних цитокина у испирку утеруса, серуму пре и после хистероскопске полипектомије.

На основу предходно изнетих чињеница, комисија сматра да завршена докторска дисертација кандидата Ане Девић под називом "**Нивои цитокина пре и после хистероскопске полипектомије код инфертилних пацијентиња**" по обиму и квалитету израде у потпуности одговара пријављеној и одобреној теми докторске дисертације.

2.5. Научни резултати докторске дисертације

Ендометријални полип може бити један од узрока неплодности жена, јер својим присуством мења квалитет ендометријума тј утиче на интензитет експресије различитих цитокина у ткиву.

- Наша студија је доказала промене у концентрацијама испитиваних цитокина: TNF- α , INF- γ и Glycodelina у испирку утеруса и у серуму пре и после хистероскопске полипектомије.
- Вредности цитокина TNF- α су статистички значајно веће у испирку утеруса и у серуму код пацијенткиња експерименталне групе (пацијенткиња са полипом ендометријума) у односу на пацијенткиње контролне групе (пацијенткиње без полипа ендометријума).
- Вредности цитокина TNF- α су веће у испирку утеруса експерименталне групе у односу на оне у серуму код пацијенткиња контролне групе.
- Вредности цитокина TNF- α у серуму расту након уклањања ендометријалног полипа експерименталне групе.
- Вредности цитокина TNF- α у испирку утеруса експерименталне групе су статистички значајно веће у односу на вредности у контролној групи пацијенткиња.
- Вредности цитокина TNF- α у серуму пацијенткиња експерименталне групе су статистички значајно веће у односу на вредности у испирку утеруса пацијенткиња контролне групе.

- Вредности цитокина TNF- α у серуму пацијенткиња експерименталне групе после хистероскопије биле су статистички значајно веће у односу на вредности у серуму пацијенткиња контролне групе после хистероскопије.
- Вредности цитокина TNF- α у испирку утеруса експерименталне групе после уклањања полипа биле су статистички значајно веће у односу на вредности у серуму пре уклањања полипа ендометријума.
- Вредности цитокина TNF- α у испирку утеруса код пацијенткиња контролне групе биле су статистички значајно веће у односу на оне у серуму после хистероскопије.
- Вредности цитокина INF- γ су статистички значајно веће у серуму код пацијенткиња експерименталне групе у односу на пацијенткиње контролне групе.
- Вредности цитокина INF- γ су статистички значајно веће у испирку утеруса код пацијенткиња експерименталне групе у односу на пацијенткиње контролне групе.
- Вредности цитокина INF- γ у испирку утеруса су статистички значајно мање него вредности у серуму како код пацијенткиња експерименталне групе тако и код пацијенткиња контролне групе.
- Вредности цитокина INF- γ у серуму пацијенткиња експерименталне групе након хистероскопије су статистички значајно веће у односу на вредности у серуму пре хистероскопије.
- Вредности цитокина INF- γ у испирку утеруса и у серуму код пацијенткиња контролне групе показују статистички значајну позитивну корелацијску повезаност што указује да са порастом вредности цитокина INF- γ у серуму расту и вредности цитокина INF- γ у испирку утеруса.
- Вредности цитокина Glycodelina код пацијенткиња експерименталне групе су статистички значајно веће у испирку утеруса у односу на ове вредности код пацијенткиња контролне групе.
- Вредности цитокина Glycodelina у серуму код пацијенткиња контролне групе биле су статистички значајно веће у односу на вредности цитокина Glycodelina у серуму пацијенткиња експерименталне групе.

- Вредности цитокина Glycodelina у испирку утеруса биле су статистички значајно веће у односу на вредности цитокина Glycodelina у серуму како код пацијенткиња експерименталне групе, тако и код пацијенткиња контролне групе.
- Вредности цитокина Glycodelina у серуму у пацијенткиња експерименталне групе су статистички значајно веће након хистероскопије у односу на вредности пре хистероскопије.
- Вредности цитокина Glycodelina у серуму пацијенткиња контролне групе су статистички значајно мање у односу на оне пре хистероскопије.
- Највећа експресија цитокина INF- γ је у експерименталној групи пацијенткиња у полипу ендометријума.
- Модална вредност експресије цитокина INF- γ у биоптату ендометријума контролне групе је најмања.
- Дистрибуција интензитета сигнала ИИИ експресије цитокина TNF- α је статистички значајно већа код пацијенткиња експерименталне групе са полипом ендометријума. Са друге стране, интензитет ИИИ експресије цитокина TNF- α у полипу експерименталне групе ј статистички значајно већи у односу на биоптат контролне групе.
- Скор ИИИ експресије цитокина Glycodelina, у биоптату ендометријума контролне групе је статистички значајно мањи у односу на скор ИИИ експресије цитокина Glycodelina у полипу експерименталне групе.

2.6. Примењивост и корисност резултата у теорији и пракси

Добијени резултати истраживања дају оригинални и веома значајан допринос бољем лечењу инфертилних пацијенткиња. Практични значај ове дистертације огледа се у могућности прављења скрининг тестова за брже, мање инвазивно и једноставније дијагностиковање пацијенткиња са ендометријалним полипом као узроком инфертилитета. Добијени резултати пледирају за добре скрининг тестове.

2.7. Начин презентирања резултата научној јавности

Коначни резултати истраживања биће презентовани у форми научних радова, као оригинално истраживање у часописима од међународног и националног значаја. До сада, резултати ове докторске дисертације објављени су у међународном часопису, категорије M23 и у часопису од националног значаја, категорије M51.

1. Ana Dević^{1,†}, Mladenko Vasiljević^{2,3}, Marija Šorak⁴, Aleksandar Dević¹, Ivana Rudić Biljić-Erski³, Goran Zajić⁵

The effect of hysteroscopic polypectomy on the concentrations of tumour necrosis factor- α (TNF- α) in uterine flushings and serum in infertile women. Srpski arhiv za celokupno lekarstvo 2019,

DOI: <https://doi.org/10.2298/SARH191026120D>

2. ANALYSIS OF GLYCODELIN LEVELS BEFORE AND AFTER HYSTEROSCOPIC POLYPECTOMY IN INFERTILE PATIENTS Marija Sorak^{1*} and Ana Devic^{2*}

ЗАКЉУЧАК

Комисија за оцену и одбрану завршене докторске дисертације кандидата др Ане Девећ под називом „**Нивои цитокина пре и после хистероскопске полипектомије код инфертилних пацијенткиња**“ на основу свега наведеног сматра да је истраживање у оквиру дисертације засновано на савременим сазнањима, прецизној методологији и да је адекватно и прецизно спроведено. Добијени резултати су јасни, прегледни, добро продискутовани и дају значајан допринос дијагностиковању и лечењу пацијенткиња са ендометријалним полипом као узроком инфертилитета.

Комисија сматра да докторска дисертација кандидата др Ане Девећ, урађена под менторством доц. др Марије Шорак има оригинални научни и практични значај у дијагностиковању и раном откривању пацијенткиња са ендометријалним полипом као узроком инфертилитета.

Комисија са задовољством предлаже Наставно-научном већу Факултета медицинских наука Универзитета у Крагујевцу да докторска дисертација под називом „**Нивои цитокина пре и после хистероскопске полипектомије код инфертилних пацијенткиња**“ кандидата др Ане Девећ буде позитивно оцењена и одобрена за јавну одбрану.

ЧЛАНОВИ КОМИСИЈЕ

1. Проф. Др Мирјана Варјачић, редовни професор Факултета медицинских наука Универзитета у Крагујевцу за ужу научну област Гинекологија и акушерство, председник



2. Проф. Др Иван Јовановић, ванредни професор Факултета медицинских наука Универзитета у Крагујевцу за ужу научну област Микробиологија и имунологија и Онкологија, члан



3. Проф. др Младнеко Васиљевић, редовни професор Медицинског факултета у Београду за ужу научну област Гинекологија и акушерство, члан



У Крагујевцу, 21.05.2020. године