

**UNIVERZITETA U NIŠU  
NASTAVNO NAUČNOM VEĆU  
ODBORU ZA DOKTORSKE STUDIJE**

**PREDMET: Izveštaj komisije o izrađenoj doktorskoj disertaciji  
dr med Asena Veličkova**

Odlukom Nastavno-naučnog veća Medicinskog fakulteta u Nišu broj 10-4145-5 na sednici održanoj 25.04.2018. godine prihvaćen je izveštaj mentora Prof. dr Predraga Kovačevića o izrađenoj doktorskoj disertaciji dr med Asena Veličkova, pod naslovom „**Prognostički značaj nuklearne morfometrije i imunohistohemijskih parametara kod melanoma kože**“ i na predlog Odbora za doktorate, donelo je odluku o formiranju Komisije za ocenu i odbranu doktorske disertacije u sastavu:

Prof.dr. Dragan Mihailović, predsednik komisije Medicinski fakultet Niš,  
Prof.dr. Predrag Kovačević, mentor i član, Medicinski fakultet Niš  
Prof.dr. Ivica Pejčić, član, Medicinski fakultet Niš,  
Prof.dr. Jefta Kozarski, član, VMA Beograd  
Doc.dr. Danica Todorović, član, Medicinski fakultet Niš

Nakon detaljnog pregleda izrađene doktorske disertacije, Komisija podnosi Naučno-nastavnom veću Medicinskog fakulteta u Nišu sledeći

**IZVEŠTAJ O IZRAĐENOJ DOKTORSKOJ DISERTACIJI**

**1. Opšti podaci autora**

Doktor medicine Asen Veličkov je rođen u Pirotu 07.07.1983. godine. Osnovnu školu i gimnaziju završava u Dimitrovgradu. Proglašen je za đaka generacije nakon završetka osnovnog obrazovanja, kao i za najboljeg đaka škole tokom trećeg i četvrtog razreda gimnazije.

Medicinski fakultet upisuje 2002. godine i tokom studija radi kao demonstrator na predmetu Medicinska genetika tokom jedne i na predmetu Fiziologija tokom 4 godine. Za vreme studija bavi se i naučnoistraživačkim radom iz oblasti mikrobiologije, fiziologije i interne medicine. Za vreme studija obavlja i stručno usavršavanje iz oblasti Hirurgije tokom letnje prakse u inostranstvu 2007. i 2008. godine. Tokom studija je i član studentskog parlamenta tokom 3 školske godine.

Studije medicine završava u Nišu 2009. godine kao stipendista Fondacije za razvoj naučnog i umetničkog podmlatka sa prosečnom ocenom 9,81. Iste godine odlazi na služenje vojnog roka u ŠRO pri Vojsci Srbije u Beogradu i tokom obavljanja vojničkog staža 2009. godine započinje akademske doktorske studije na Medicinskom fakultetu u Nišu na smeru Molekularna medicina. Kao stipendista Ministarstva nauke i

tehnološkog razvoja usmerava se na oblast plastične hirurgije i patologije. Tokom doktorskih studija radi kao stručni saradnik - volonter na premetu Biohemija od oktobra 2010., a juna 2011. godine počinje sa radom kao klinički lekar – volonter na Klinici za plastičnu i rekonstruktivnu hirurgiju KC Niš gde aktivno učestvuje u radu Klinike. Ispite na doktorskim studijama položio je sa prosečnom ocenom 9,94.

Specijalizaciju iz ortopedije i traumatološke hirurgije na Klinici za ortopediju i traumatološku hirurgiju na II Hirurškoj Klinici, Klinike Koburg u Bajernu, Nemačka započinje jula 2014. godine. Autor je više radova iz oblasti medicine. Oženjen je i otac dvoje dece.

## **2. Odnos uradjene disertacije prema prijavi i odobrenje teme:**

Na osnovu odluke Nastavno-naučnog veća Medicinskog fakulteta u odobrena je tema za izradu doktorske disertacije dr med Asena Veličkova, pod naslovom „**Prognostički značaj nuklearne morfometrije i imunohistohemijskih parametara kod melanoma kože**“. Nevedena tema je izrađena sa principima naučno istraživačkog rada.

Odobreni ciljevi istraživanja i metodologija rada su ostali nepromenjeni tokom doktorske disertacije. Naslov doktorske disertacije se u potpunosti podudara sa sadržajem izrađene disertacije.

## **3. Karakteristike uradjene doktorske disertacije**

Doktorska disertacija Asena Veličkova sastoji se iz sledećih poglavlja: 1. Uvod, 2. Ciljevi istraživanja i hipoteza, 3. Pacijenti i metode, 4. Rezultati, 5. Diskusija, 6. Zaključci i 7. Literatura. Pored naslovne strane i podataka o doktorskoj disertaciji sa rezimeom na srpskom i engleskom jeziku, na kraju disertacije data je biografija autora sa potpisanim izjavama. Naslov doktorske disertacije je precizano definisan, a doktorska disertacija napisana je eksplicitnim stilom koji odlikuje naučno istraživački rad.

U uvodnom delu prikazan je teorijski osvrt na proučavanu problematiku. Navedena su opšta i savremena saznanja vezana za anatomske i funkcionalnu građu kože sa aspekta onkološke hirurgije i opšte karakteristike melanocita i melanocitnih promena kože. Napravljen je i istorijski osvrt na istraživanja vezana za melanom kože. Učinjen je i uvid u epidemiološke karakteristike, geografsku i polnu distribuciju, karakteristike mortaliteta, starosne i rasne karakteristike. Prikazana su i kretanja incidencije melanoma. Potom je učinjen osvrt na etiopatogenezu sa prikazom teorija nastanka melanoma, molekularne biologije, faktora rizika i karakteristika anatomske lokalizacije. Prikazani su i klinički tipovi melanoma kože, kao i detaljan osvrt na dijagnostički i terapijski pristup melanomu kože. Takođe je prikazan i način stadiranja melanoma, kao i uvodne napomene o značaju obrađivanih imunohistohemijskih parametara.

Rad poseduje 169 stranica, 41 tabelu, 28 slika i 5 grafikona.

Korišćene su odgovarajuće statističke metode u cilju sagledavanja i interpretacije rezultata. Rezultati disertacije predstavljaju značajan doprinos u unapređenju poznavanja prognostičkog značaja kariometrijskih i imunohistohemijskih parametara kod hirurški lečenih pacijenata sa melanomom kože. Izrađena disertacija predstavlja samostalan i originalan naučni rad sa značajnim doprinosom iz oblasti patologije i plastične hirurgije.

#### **4. Ciljevi istraživanja:**

Ciljevi istraživanja doktorske disertacije postavljeni su jasno i precizno u skladu sa temom i primenom adekvatne metodologije. Definisana je tema doktorske disertacije i iznete su glavne smernice kojima se vodio autor u radu.

Postavljeni ciljevi u prijavi doktorske disertaciji su u potpunosti ostvareni. Neki od najvažnijih ostvarenih ciljeva u doktorskoj disertaciji su:

1. Utvrđivanje epidemioloških karakteristika pacijenata sa melanomom kože lečenih na Klinici za onkologiju KC Niš za ispitivani period, sa teritorije Južne i Istočne Srbije.

2. Klasifikacija pacijenata u dve podgrupe, radi praćenja toka bolesti, i utvrđivanje kliničkog toka.

3. Utvrđivanje kariometrijskih parametara među odabranim pacijenata iz obe grupe u cilju utvrđivanja prognostičkog značaja kariometrijskih parametara.

4. Utvrđivanje karakteristika odabranih imunohistohemijskih parametara.

5. Utvrđivanje prognostičkog značaja nuklearne morfometrije i imunohistohemijskih parametara, pojedinačno, kao i uzajamno, kao i između istih i različitih grupa pacijenata.

6. Utvrđivanje korelacije između kariometrijskih i imunohistohemijskih parametara i patološko-kliničkih parametara.

Ostvareni ciljevi disertacije pružaju osnovu za razumevanje kliničko-morfoloških karakteristika i njihovog uzajamnog odnosa, kao i prognostičkog značaja ispitivanih karakteristika.

#### **5. Hipoteza:**

Očekuje se da analiza epidemioloških nalaza ukaže na karakteristike biološkog toka bolesti tokom ispitivanog perioda, kao i kretanja po različitim ispitivanim distribucijama (polna, starosna itd.). Očekuje se da korelacija između ispitivanih kariometrijskih parametara, imunohistohemijskih parametara i kliničkih parametara ukaže na statistički značajnu prognostičku vrednost imunohistohemijskih i kariometrijskih varijabli.

H0 Ne postoji prognostički značaj imunohistohemijskih i kariometrijskih karakteristika melanoma za predviđanje biološkog toka melanoma (recidivi metastaze, smrtni ishod).

H1 Postoji prognostički značaj imunohistohemijskih i kariometrijskih karakteristika melanoma za predviđanje biološkog toka melanoma (recidivi metastaze, smrtni ishod).

#### **6. Ispitanici i metod rada**

U poglavlju Pacijenti i metode precizno su opisani postupci korišćeni u istraživanju. Prvo je izvršena je adekvatna selekcija pacijenata za studiju i definisani parametri koji će ući u epidemiološki deo istraživanja. Definisane su dve grupe ispitanika

u odnosu na klinički tok bolesti, a potom je iz tih grupa izdvojen podjednak broj pacijenata kod kojih je sprovedeno ispitivanje prognostičkog značaja kariometrije i definisanih imunohistohemijskih parametara. Morfometrijske, imunohistohemijske i statističke metode su detaljno objašnjene tako da se istraživanje može ponoviti.

## **7. Statistička metodologija**

U obradi podataka korišćena je standardna deskriptivna i analitička statistička metodologija. Deskriptivnom statističkom analizom prikazani su sledeći statistički parametri: aritmetička sredina, standardna devijacija, koeficijent varijacije, apsolutna frekvencija (N) i indeks strukture (%).

Analitičkom statističkom metodologijom izmerena je statistička značajnost međusobnih razlika prosečnih vrednosti određenih obeležja kod svih ispitanika i razdvojeno na grupe. Korišćeni su parametrijski testovi ili neparametrijski (ako je  $CV > 30\%$ ).

Poređenje učestalosti javljanja pojedinih modaliteta atributivnih obeležja između grupa vršeno je Pearson  $\chi^2$  testom/Fisher exact testom. Poređenje srednjih vrednosti numeričkih obeležja između dve nezavisne grupe ispitanika vršeno je Student-ovim t-testom ili Mann-Whitney U-testom.

Za merenje povezanosti određenih obeležja urađena je korelaciona analiza (Pearson). Prediktorni uticaj određenih nezavisnih varijabli na zadatu dihotomnu zavisnu varijablu izmeren je logističkom regresionom analizom, najpre univarijantnom a zatim multivarijantnom (varijable koje su univarijantno značajne uvode se u multivarijantni model). Za analizu značajnosti trenda kretanja promena praćenih u periodu 2002.-2012. korišćena je Joinpoint regresiona analiza.

Statistička analiza je urađena korišćenjem Excel program iz Microsoft Office programskog paketa i SPSS programa u verziji 18.0 i Joinpoint softvera. Kao prag statističke značajnosti korišćen je nivo greške procene manji od 5% ( $p < 0,05$ ). Rezultati statističke analize prikazani su tabelarno i grafički.

U poglavlju Rezultati, iznet je detaljan pregled dobijenih rezultata istraživanja ilustrovanih grafikonima i tabelama i mikrofotografijama visokog kvaliteta, koji u potpunosti proizilazi iz primenjene metodologije istraživanja. Rezultati su obrađeni i analizirani korišćenjem adekvatne statističke metodologije i pregledno su prikazani logičkim redosledom u odnosu na postavljene ciljeve istraživanja.

Diskusija je obuhvatila temeljno upoređivanje dobijenih rezultata sa sličnim podacima iz literature. Rezultati doktorske disertacije diskutovani su u svetlu savremenih saznanja problematike prognoze kod melanoma kože. Izneti su aktuelni podaci iz literature o kariometrijskim karakteristikama melanoma kože, kao i o ispitivanim imunohistohemijskim parametrima; ovi podaci su dakako razmatrani i u svetlu prognostičkog značaja istih kod pacijenata sa melanomom kože.

## **8. Zaključak**

Zaključci su definisani jasno, precizno i direktno daju odgovore na postavljene cinjeve istraživanja. Ujedno, zaključci pružaju morfološku osnovu razumevanja kliničkog

i prognostičkog značaja ispitivanih parametara i daju mogućnost daljeg proučavanja u ovoj oblasti.

Najvažniji zaključci istraživanja su:

1. Za ispitivani period 2002 – 2011. postoji statistički značajan godišnji porast incidence oboljevanja od melanoma kože, za period nakon 2004. je registrovan i značajan porast novoobolelih, kod kojih se tokom kliničkog praćenja nije javio recidiv/metastatska bolest, što odgovara povećanom broju dijagnoza u ranijim stadijumima. Takođe, postoji statistički značajan porast broja novoobolelih pacijenata u populaciji starijih od 50 godina.

2. U periodu 2009. do 2011. postoji smanjenje incidence agresivnih kliničkih formi melanoma, ali bez statističke značajnosti. Dve trećine recidiva javlja se u toku prve godine.

3. Klinički stadijum bolesti je pokazao uslovljenost I stadijuma sa lokalizacijom na glavi i vratu, leđima, ruci i nozi; II stadijum najčešće se manifestovao pojavljivanjem na glavi i vratu i na leđima. Isti stadijum je u značajnom broju slučajeva bio povezan i sa postojanjem ulceracije na primarnom tumoru; stadijum III/IV značajno je povezan sa lokalizacijom na glavi i vratu.

4. Među 60 pacijenata morfometrijski i imunohistohemijski obrađenih veća debljina po Breslowu i postojanje ulceracije su negativni prognostički parametri.

5. Porast vrednosti nuklearnomorfometrijskih parametara cirkularnosti i zaobljenosti praćen je lošom prognozom bolesti.

6. Raspored i koncentracija CD4 pozitivnih ćelija u različitim kompartmanima u tumoru i peritumorskom tkivu nije pokazala prognostički značaj. Porast ukupne koncentracije intratumorski lokalizovanih CD4 pozitivnih ćelija imala je pozitivan prognostički značaj. Jače prebojene CD4 pozitivne ćelije kao i procentualno veći udeo CD4 pozitivnih ćelija u odnosu na nebojene ćelije istih morfoloških karakteristika imale su pozitivan prognostički značaj.

7. Raspored i koncentracija analiziranih CD8 pozitivnih ćelija u oviru tumorskog preparata (intra i peritumorski) nije imala prognostički značaj. Porast ukupne koncentracije intratumorski lokalizovanih CD8 pozitivnih ćelija imala je pozitivan prognostički značaj, kao i procentualno veći udeo CD8 pozitivnih ćelija u odnosu na nebojene ćelije istih morfoloških karakteristika.

8. Analiza CD15 prebojenja pokazala je da razlike u koncentracijama CD15 ćelija u pojedinim kompartmanima, intra i peritumorski, imaju prognostički značaj. Sa druge strane, samo prisustvo pozitivnih ćelija u kompartmanima preparata bez postojanja gradijenta koncentracije, intenzitet bojenja i broj CD15 pozitivnih ćelija u vidnom polju na preparatu nisu imali prognostički značaj. Veća koncentracija peritumorski lokalizovanih CD15 ćelija nosi lošu prognozu.

9. Analiza CD117 bojenja nije pokazala prognostički značaj ni u jednoj zasebno ispitivanoj karakteristici bojenja.

10. Povoljan prognostički značaj ima istovremeni porast broja CD4 i CD8 pozitivnih ćelija.

11. Jedina značajna korelacija morfometrijskog parametra Roundness nađena je sa CD117 pozitivnim ćelijama, tj. porast Roundness korelira sa smanjenjem vrednosti parametara CD117.

12. Porast CD15 pozitivnih ćelija sa porastom Area, Circularity, IntDen, Roundness predviđa dobru prognozu, dok nasuprot tome ispodprosečan nivo CD117 parametara sa porastom cirkularnosti i zaobljenosti može ukazivati na lošu prognozu bolesti. Ovi rezultati ukazuju na opravdanost sprovođenja skrining sluha i ispitivanje vestibularne funkcije kod dijabetičara, čime bi se utvrdila kohleovestibularna funkcija i integritet aditivnog sistema, a samim tim bi bila moguća blagovremena prevencija kao i adekvatna terapija.

Poslednje poglavlje, Literatura, sadrži 466 referenci navedenih po redosledu citiranja u tekstu disertacije.

## **9. Ocena naučnog doprinosa disertacije**

Doktorska disertacija dr med Asena Veličkova pod naslovom „*Prognostički značaj nuklearne morfometrije i imunohistohemijskih parametara kod melanoma kože*“ ima nesumljiv doprinos koji se ogleda u sledećem:

Rezultati disertacije su od velikog značaja za bolje razumevanje još uvek nedovoljno jasnih karakteristika ćelija koje infiltrišu melanom, kao i samih tipova melanomskih ćelija. Originalnost disertacije sastoji se u populacionoj studiji sa prostora Južne i Istočne Srbije sa sistematskim pristupom epidemiološkim karakteristikama pacijenata, a potom i detaljnom analizom distribucije ispitivanih parametara, kao i statističkom komparacijom dobijenih podataka. U ovoj populaciji je po prvi put učinjena kariometrijsko-imunohistohemijska studija ovog tipa, uz primenu najsavremenije i adekvatne metodologije. Poseban doprinos je istovremena komparacija imunohistohemijskih, morfometrijskih, kao i kliničkopatoloških parametara i pokazivanje njihovih prognostičkog značaja. Ovo definitivno postavlja osnove za dalja istraživanja u ovoj oblasti.



## 10. Zaključak komisije

Doktorska disertacija dr med Asena Veličkova pod naslovom „Prognostički značaj nuklearne morfometrije i imunohistohemijskih parametara kod melanoma kože“ predstavlja njegov originalni i samostalni naučni rad u oblasti medicinskih nauka iz naučnih disciplina hirurgije i patologije.

Samostalnost u izradi doktorske disertacije odnosi se na sve delove disertacije (definisane i sprovođenje istraživanja, uzorkovanje materijala, kliničko-epidemiološko praćenje pacijenata, analiza imunohistohemijskih preparata i sprovođenje morfometrijskih metoda, fotografisanje i obrada mikrofotografija). Takođe je samostalno nalazio i koristio savremenu literaturu iz oblasti istraživanja i pisao radove koji sadrže rezultate doktorske disertacije. Sve gore navedeno ukazuje na izuzetnu samostalnost i sklonost kandidata ka naučno istraživačkom radu.

Doktorska disertacija odgovorila je postavljenim ciljevima u smislu:

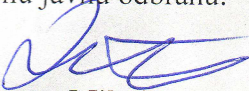
1. aktuelnosti pregleda naučne literature iz proučavane oblasti
2. adekvatnosti primenjene metodologije
3. sistematizacije i ilustrovanja rezultata i mikrofotografija visokog kvaliteta
4. originalnog i inovativnog tumačenja rezultata sa ciljem definisanja

prognostičkih kariometrijskih i imunohistohemijskih parametara kod melanoma kože.

Konačno istraživanje predstavlja doprinos podacima o prognostičkom značaju određenih kariometrijskih odnosno imunohistohemijskih parametara.

Komisija u navedenom sastavu prihvata i pozitivno ocenjuje izradjenu doktorsku disertaciju dr med Asena Veličkova pod naslovom „*Prognostički značaj nuklearne morfometrije i imunohistohemijskih parametara kod melanoma kože*“ i predlaže Nastavno naučnom veću Medicinskog fakulteta u Nišu da ovu disertaciju prihvati i pokrene postupak za njenu javnu odbranu.

### ČLANOVI KOMISIJE

  
Prof.dr. Dragan Mihailović, predsednik komisije Medicinski fakultet Niš,

Prof.dr. Predrag Kovačević, mentor i član, Medicinski fakultet Niš,

Prof.dr. Ivica Pejčić, član, Medicinski fakultet Niš,

Prof.dr. Jefta Kozarski, član, VMA Beograd

Doc.dr. Danica Todorović, član, Medicinski fakultet Niš

