

27. 01. 2015.			
Број			
06	997		

**PREDMET: Izveštaj komisije o izrađenoj doktorskoj disertaciji kandidata
asist. mr Jelene Milošević-Stevanović**

Odlukom Nastavno-naučnog veća Medicinskog fakulteta Univerziteta u Nišu od 12.01.2015. godine, a na predlog Odbora za doktorske disertacije, prihvaćen je izveštaj mentora Doc. dr Miljana Krstića o izrađenoj doktorskoj disertaciji pod naslovom **“Analiza kliničkih parametara, histopatološkog nalaza i imunofenotipa limfocita u decidui posteljice kod preeklampsije”** kandidata Jelene D. Milošević-Stevanović.

Istom odlukom imenovana je komisija za ocenu i odbranu završene doktorske disertacije u sledećem sastavu:

1. Prof. dr Jasmina Popović - predsednik
2. Doc. dr Miljan Krstić - mentor i član
3. Prof. dr Miroslav Folić - član sa Medicinskog fakulteta u Kragujevcu

Komisija je proučila doktorsku disertaciju asistentkinje Jelene D. Milošević-Stevanović i Nastavno-naučnom veću Medicinskog fakulteta u Nišu podnosi sledeći

IZVEŠTAJ

I Opšti podaci

Tema za izradu doktorske disertacije asist. mr Jelene Milošević-Stevanović je odobrena rešenjem broj 04-758/09 na osnovu odluke Nastavno-naučnog veća Medicinskog fakulteta u Nišu i saglasnosti Univerziteta u Nišu. Doktorant mr. Jelena Milošević-Stevanović obavila je istraživanje u Klinici za ginekologiju i akušerstvo, Centru za patologiju i patološku anatomiju i Centru za medicinsku biohemiju Kliničkog centra u Nišu, kao i Zavodu za transfuziju krvi u Nišu i laboratoriji “Beo-lab” u Beogradu.

II Odnos izrađene doktorske disertacije prema prijavljenoj i odobrenoj temi

Doktorska disertacija **“Analiza kliničkih parametara, histopatološkog nalaza i imunofenotipa limfocita u decidui posteljice kod preeklampsije”** predstavlja originalan i samostalan naučno-istraživački rad sa značajnim doprinosom u oblasti ginekologije i akušerstava. Naslov doktorske disertacije se u potpunosti podudara sa sadržajem sprovedenog istraživanja. Disertacija sadrži sve predviđene sastavne delove i pisana je u skladu sa principima naučno-istraživačkog rada. Postavljeni ciljevi istraživanja, kao i metodologija nisu menjani u odnosu na odobreno.

III Tehnički opis disertacije

Doktorska disertacija je napisana na 158 strana i sastoji se iz 7 poglavlja: uvod, cilj istraživanja, bolesnice i metode, rezultati, diskusija, zaključak i literatura.

IV Sadržajna struktura disertacije

Izrađena doktorska disertacija predstavlja originalan i samostalan naučno-istraživački rad sa jasno postavljenim ciljevima koji su u skladu sa zadatom temom.

U **uvodnom delu rada** kandidat daje teorijski prikaz dešavanja koja čine osnovu nastanka složenog fenomena preeklampsije i njihovih implikacija na kliničke manifestacije u trudnoći. Ovo je učinjeno kroz šest poglavlja: razvoj placente, zrela placenta, klinički značaj patologije placente, imunologija trudnoće, preeklampsija i intrauterusni zastoj u rastu ploda. U poglavlju koje detaljno opisuje mehanizam razvoja placente autor se posebno bavi implantacijom i regulacijom invazije trofoblasta u krvne sudove decidue čiji poremećaj se smatra primarnim fenomenom u etiopatogenezi preeklampsije. Kroz osvrt na karakteristike zrele placente i klinički značaj patologije placente istaknute su glavne histopatološke karakteristike placente kod pojedinih komplikacija u trudnoći i njihove kliničke implikacije. U poglavlju koje se bavi imunološkim dešavanjima u trudnoći istaknuta je uloga glavnih imunskih ćelija prisutnih u decidui: natural killer (NK) ćelija, T limfocita, makrofaga i dendritičnih ćelija kako u procesu nastanka i razvoja normalne trudnoće, tako i u etiopatogenezi i kliničkim manifestacijama patoloških trudnoća, posebno preeklampsije i intrauterusnog zastoja u rastu ploda. Kako fenomen preeklampsije još uvek nije u potpunosti etiopatogenetski razjašnjen, autor se u poglavlju koje ga opisuje posebno bavi etiopatogenetskim modelima sa posebnim osvrtom na moguću ulogu imunskih ćelija u nastanku i kliničkim manifestacijama preeklampsije. Ona je često udružena sa intrauterusnim zastojem u rastu ploda, ali se može javiti i samostalno što je navelo autora da se bavi mogućim zajedničkim, ali i specifičnim etiopatogenetskim faktorima.

Nakon teorijskog obrazloženja značaja istraživanja kandidat je postavio sledeće **ciljeve istraživanja**:

- analiza kliničkih karakteristika trudnoća komplikovanih preeklampsijom;
- analiza histopatoloških karakteristika decidue i placente kod preeklampsije i normalne trudnoće;
- imunohistohemijska identifikacija i kvantifikacija trofoblastnih ćelija i populacija imunskih ćelija u decidui;
- komparacija histopatoloških i imunohistohemijskih nalaza sa kliničkim parametrima kod preeklampsije.

U poglavlju **bolesnice i metode** opisani su metodološki postupci korišćeni pri izradi doktorske disertacije. Radi se o prospektivnoj studiji u kojoj je ispitivanu grupu činilo 30 trudnica sa preeklampsijom porođenih carskim rezom, od kojih je kod 19 preeklampsija bila udružena sa intrauterusnim zastojem u rastu ploda, a kod 11 nije. Kriterijumi za dijagnozu preeklampsije su bili registrovanje novonastale arterijske hipertenzije, odnosno dijastolnog pritisaka ≥ 90 mmHg i sistolnog pritisaka ≥ 140 mmHg, mereno u dve odvojene situacije unutar 24 sata sa razmakom većim od 6 sati i proteinurije ≥ 300 mg proteina u 24-časovnom urinu koji su se razvili nakon 20. nedelje trudnoće kod prethodno normotenzivnih žena. Kriterijum za postavljanje dijagnoze IUGR bio je: porođajna masa neonatusa ispod desetog percentila za datu gestacijsku starost. Kontrolnu grupu činilo je 20 zdravih trudnica porođenih elektivnim carskim rezom. Placente i uzorci placentnog ležišta dobijeni u toku carskog reza su histopatološki (HP) analizirani nakon hematoksilin-eozin bojenja i imunohistohemijskog obeležavanja CD45+ leukocita, CD3+ T limfocita, CD8+ T limfocita, CD56+ NK ćelija, CD68+ makrofaga i CK7+ trofoblastnih ćelija u decidui. Dobijeni rezultati su sistematizovani, grupisani i formirana je baza

podataka. Statistička obrada podataka urađena je u programskom paketu SPSS 15.0. Kontinualne varijable predstavljene su srednjim vrednostima, standardnim devijacijama i medijanom, dok su kvalitativne predstavljene svojim učestalostima i procetualno. Utvrđivanje normalnosti raspodele kontinualnih varijabli vršeno je Shapiro Wilk testom. Ukoliko je distribucija kontinualnih podataka bila normalna, poređenje aritmetičkih sredina dva nezavisna uzorka vršeno je Studentovim t-testom nezavisnih uzoraka, a ukoliko nije Mann-Whitney-evim U testom ili Kruskal-Wallis-ovim testom. Jačina povezanosti ispitivanih varijabli određivana je na osnovu vrednosti Pirsonovog koeficijenta linearne korelacije u slučaju normalne raspodele vrednosti varijabli, odnosno Spearmanovim koeficijentom u slučaju da raspodele varijabli koje se korelišu odstupaju od normalne raspodele. Poređenje apsolutnih frekvencija kategorijskih varijabli vršeno je Hi-kvadrat testom.

Rezultati istraživanja su sistematizovani i prikazani pomoću 66 tabela, 4 grafikona i 14 histopatoloških slika. Prikaz rezultata počinje analizom starosti i pariteta ispitanica studijske i kontrolne grupe, kao i u odnosu na težinu kliničke slike preeklampsije i prisustvo intrauterusnog zastoja u rastu ploda u okviru same ispitivane grupe sa preeklampsijom. Zatim je razmatrana eventualna povezanost broja prethodnih spontanih pobačaja u akušerskoj anamnezi ispitanica i pojave preeklampsije. Analizirana je distribucija frekvencije gestacijske starosti u vreme porođaja kod preeklampsije i kontrolne grupe, kao i u odnosu na težinu preeklampsije i zastupljenost intrauterusnog zastoja u rastu ploda. Potom je kroz tabelarni prikaz načinjena analiza brojnih kliničkih karakteristika trudnoća komplikovanih preeklampsijom i nekomplikovanih trudnoća, kao što su: visina arterijskog krvnog pritiska, zastupljenost krvnih grupa ABO sistema i RhD antigena, karakteristike kardiokografskog zapisa, zastupljenost oligoamniona i intrauterusnog zastoja u rastu ploda, lokalizacija placente, Dopplerski protoci kroz aa. uterinae, a. umbilicalis i a. cerebri media, nivo proteinurije, koagulacioni status, hematološki i laboratorijsko-biohemijski parametri. Većina ovih parametara poređena je ne samo između studijske i kontrolne grupe, već i u okviru same studijske grupe između podgrupa sa teškom i lakom formom preeklampsije, kao i u odnosu na prisustvo ili odsustvo intrauterusnog zastoja u rastu ploda. Zatim je analiziran perinatalni ishod kroz karakteristike neonatusa na rođenju i neposredno postnatalno, prisutan perinatalni morbiditet, analizu neonatalnih laboratorijsko-biohemijskih i hematoloških parametara. Potom se prelazi na prikaz kako makroskopskih karakteristika placente i pupčanika ispitivanih grupa, tako i mikroskopskih histopatoloških karakteristika placente i tkiva decidue. Sistematično su analizirane histopatološke karakteristike placentalnih vilusa, arterijskih krvnih sudova decidue i distribucija imunskih ćelija u decidui (leukocita, NK ćelija, CD3 i CD8 T limfocita i makrofaga) nakon njihove imunohistohemiske vizualizacije. Step en trofoblasne invazije kvantifikovan je nakon obeležavanja trofoblastnih ćelija anti- CK7 antitelima. Takođe je analiziran odnos broja imunskih ćelija u decidui i distribucije trofoblastnih ćelija unutar arterijskog krvnog suda decidue, kao i u odnosu na prisustvo hiperplazije vilusa placente.

U poglavlju **diskusija** kandidat analizira dobijene rezultate i izvodi relevantne zaključke. Dobijeni rezultati upoređeni su sa velikim brojem podataka drugih autora iz dostupne aktelne literature.

U šestom poglavlju su kroz 11 tačaka izneti **zaključci** sprovedenog istraživanja:

1. Analizom kliničkih karakteristika trudnica sa preeklampsijom utvrđeno je da se predominantno radi o prvotokama, prosečne starosti 31,3 godine, prosečne gestacije u vreme porođaja od 36,6 nedelja uz naročito visok udeo prevremeno rođenih neonatusa u podgrupi sa teškom formom preeklampsije;

2. Praćenje Dopplerskih parametara protoka uteroplacentne, fetoplacentne i fetalne cirkulacije je veoma značajno u predikciji perinatalnog ishoda, a posebno u slučajevima preeklampsije udružene sa intrauterusnim zastojem u rastu ploda;
3. Kardiotokografski nalaz dobro korelira sa parametrima protoka kroz umbilikalnu i srednju cerebralnu arteriju. Utvrđeno je da na zastupljenost tipova kardiotokografskih zapisa kod preeklampsije statistički značajno utiče prisustvo oligoamniona, a kardiotokografija se pokazala kao dijagnostička metoda koja dobro korelira sa stanjem novorođenčeta na rođenju;
4. Koagulacioni status je kod preeklampsija najčešće nepromenjen;
5. Laboratorijsko-biohemijski parametri majke koji su se isključivo javljali kod teške preeklampsije bili su: trombocitopenija i povišene vrednosti AST i LDH;
6. Preeklampsiju karakteriše niža telesna masa i dužina neonatusa, niži Apgar skor, a od laboratorijsko-biohemijskih parametara neonatusa dominiraju policitemija, niže prosečne vrednosti glikemije i broja trombocita, dok su u perinatalnom morbiditetu češći neonatalna asfiksija i RDS u odnosu na nekomplikovanu trudnoću;
7. Utvrđeni su značajno manja masa placenti i tanji pupčanik kod preeklampsije, a slučajevi marginalne i velamentozne insercije pupčanika registrovani su isključivo u ovoj grupi pacijentkinja;
8. Osnovna histopatološka karakteristika placenti kod preeklampsije je hiper maturitet vilusa, ali ovo je posebno karakteristično za preeklampsiju udruženu sa intrauterusnim zastojem u rastu ploda;
9. Od histopatoloških promena bazalne decidue najčešće su bile prisutne neadekvatna trofoblasna invazija spiralnih arterija i fibrinoidna nekroza medije. Promene u smislu decidualne vaskulopatije placentalnog ležišta su pre karakteristika same preeklampsije nego zastoja u rastu ploda;
10. Preeklampsija udružena sa intrauterusnim zastojem u rastu ploda i ona bez njega mogle bi etiopatogenetski biti dva različita entiteta;
11. Distribuciju imunskih ćelija u decidui kod preeklampsije karakteriše manja zastupljenost CD56+ NK ćelija i veća zastupljenost CD3+ T limfocita, CD8+ T limfocita i makrofaga, dok u pogledu zastupljenosti ukupnog broja CD45+ leukocita nema značajnih razlika u odnosu na nekomplikovanu trudnoću.

Saznanja o fenotipu i funkciji maternalnih imunskih ćelija u normalnoj i patološkoj trudnoći mogu da unaprede naše razumevanje imunobiologije trudnoće uopšte i mogla bi da doprinesu unapređenju tretmana patoloških trudnoća.

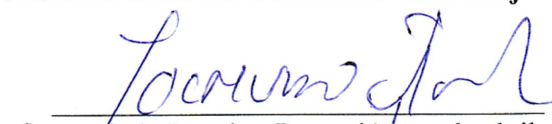
U sedmom poglavlju je navedena *literatura* koja je korišćena u izradi disertacije, ona sadrži 378 relevantne domaće i inostrane reference sa značajnim udelom literature novijeg datuma.

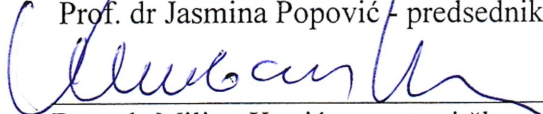
ZAKLJUČAK I PREDLOG KOMISIJE

Doktorska disertacija “**Analiza kliničkih parametara, histopatološkog nalaza i imunofenotipa limfocita u decidui posteljice kod preklampsije**” asist. mr Jelene D. Milošević-Stevanović je obimna studija izrađena prema principima naučno-istraživačkog rada i predstavlja originalan i naučno-zasnovan rad izuzetnog kliničkog značaja u oblasti ginekologije i akušerstva, posebno perinatologije, kao i patologije i imunologije. Kandidat Jelena D. Milošević-Stevanović je pokazala sposobnost za istraživački rad, adekvatno korišćenje metodologije rada i literature, kao i sposobnost za adekvatnu interpretaciju dobijenih rezultata.

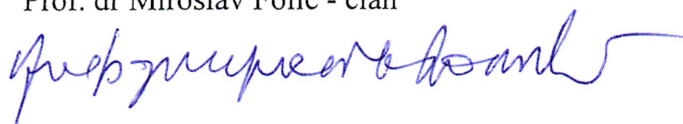
Zbog svega navedenog komisija predlaže Nastavno-naučnom veću Medicinskog fakulteta Univerziteta u Nišu da usvoji pozitivnu ocenu izrađene doktorske disertacije i da asist. mr Jeleni D. Milošević-Stevanović odobri javnu odbranu.

Komisija za ocenu i odbranu izrađene doktorske disertacije:


Prof. dr Jasmina Popović - predsednik


Doc. dr Miljan Krstić - mentor i član

Prof. dr Miroslav Folić - član



Ocena glavnog naučnog doprinosa disertacije

Naučni doprinos doktorske disertacije asist. mr Jelene Milošević-Stevanović "Analiza kliničkih parametara, histopatološkog nalaza i imunofenotipa limfocita u decidui posteljice kod preeklampsije" proizilazi iz aktuelnosti problema i još uvek etiopatogenetski u potpunosti nerasvetljenog fenomena preeklampsije. Utvrđene promene placentnog ležišta u smislu decidualne vaskuopatije su glavna histopatološka karakteristika same preeklampsije, dok su promene na placentnim vilusima u smislu njihovog hiperimaturiteta pre svega karakteristične za prisustvo IUGR što bi moglo da ukaže da su preeklampsija sa i bez IUGR dva etiopatogenetski različita entiteta. Alteracije u broju imunskih ćelija u decidui kod preeklampsije u odnosu na nekomplikovanu trudnoću, kao i u odnosu na stepen invazije trofoblasta ukazuju na njihovu važnu ulogu u placentaciji i etiopatogenezi preeklampsije. Saznanja o fenotipu i funkciji maternalnih imunskih ćelija u normalnoj i patološkoj trudnoći unapređuju naše razumevanje imunobiologije trudnoće uopšte i mogla bi da doprinesu unapređenju tretmana patoloških trudnoća.

The main scientific contribution of the doctoral thesis

The scientific contribution of the doctoral dissertation by assist. mr Jelena Milosevic-Stevanovic "Analysis of clinical parameters, histopathological findings and immunophenotype of lymphocytes in the placental decidua in preeclampsia," stems from the current problem and from etiopathogenetically yet unsolved phenomenon of pre-eclampsia. Identified changes in placental bed in terms of decidual vasculopathy are major histopathological characteristics of preeclampsia, while changes in placental villus in terms of their hypermaturity are primarily characteristic of IUGR, which might indicate that preeclampsia with and without IUGR are two etiopathologically different entities.

Alterations in the number of decidual immune cells in preeclampsia compared to uncomplicated pregnancy, as well as compared to the degree of trophoblast invasion indicate their significant role in placentation and etiopathogenesis of preeclampsia. The knowledge of the phenotype and function of maternal immune cells in normal and pathological pregnancy enhance our understanding of the immunobiology of pregnancy in general and could contribute to improving the treatment of pathological pregnancies.

NAUČNI RADOVI KANDIDATA IZ OBLASTI DOKTORSKE DISERTACIJE

Milošević J, Tasić M, Lilić V, Antić V, Vukomanović P, Pop-Trajković S. Trudnoća nakon konzervativnog hirurškog lečenja mucinoznog adenokarcinoma jajnika. *Vojnosanit Pregl* 2011;68(1):77-80.

(SCI)

Radović Janošević D, Lilić V, Bašić H, Tubić Pavlović A, Stefanović M, **Milošević J**. Značaj "natural killer" ćelija decidue kod ponavljanih spontanih pobačaja. *Vojnosanit Pregl* 2011;68(1):41-5.

(SCI)

Stefanović M, Vukomanović P, Kutlešić R, Popović J, Janošević-Radović D, **Milošević-Stevanović J**. Intraamniol methotrexate in cervical pregnancy treatment. Rad prihvaćen za štampu od strane časopisa *Clinical and Experimental Obstetrics & Gynecology, an International Journal*, REF. CEOG 2004/34, jula 2014. godine

(SCI)

OSTALI VAŽNIJI NAUČNI RADOVI KANDIDATA

Lilić V, Lilic G, Filipović S, **Milošević J**, Tasić M, Stojiljković M. Modern tretment of invasive carcinoma of the uterine cervix. *J BUON* 2009; 14:587-92.

(SCI)

Dorđević B, **Milošević J**, Stanojević Z. Zastupljenost i karakteristike polipa endometrijuma kod bolesnica sa patološkim uterušnim krvarenjem. *Vojnosanit Pregl* 2008;65(5):349-52.

(SCI)

Milošević J, Lilić V, Tasić M, Radović-Janošević D, Stefanović M, Antić V. Placentne komplikacije nakon carskog reza u prethodnoj trudnoći. *Med pregl* 2009;62(5-6):212-6.

(MEDLINE)

Pop-Trajković S, Ljubić A, Kopitović V, Antić V, **Milošević J**, Trenkić M. Multicistična displazija bubrega fetusa - praćenje i ishod. *Med pregl* 2010;63(3-4):262-6.

(MEDLINE)

Tasić M, **Milošević J**, Stefanović M, Radović-Janošević D, Krstić M, Antić V. Kell imunizacija – prikaz slučaja. *Med pregl* 2009;62(7-8):369-72.

(MEDLINE)

Tasić M, Lilić V, **Milošević J**, Stefanović M, Antić V. Perinatalni ishod fetusa zaostalog u rastu sa odsutnim enddiastolnim protokom krvi u umbilikalnoj arteriji – prikaz slučaja. *Med pregl* 2010;63(1-2):123-6.

(MEDLINE)

Ukupan broj publikovanih radova doktoranta: 28 (dvadeset osam)