

NAU NOM VE U MEDICINSKG FAKULTETA  
UNIVERZITETA U BEOGRADU

Na sednici Nau nog ve a Medicinskog fakulteta u Beogradu, održanoj dana 9.3.2017. godine, broj 5940/09, imenovana je komisija za ocenu završene doktorske disertacije pod naslovom:

**„Proinflamatorni i antiinflamatorni citokinikao pokazatelji operativne traume i stepena tkivnog oste enja kod laparoscopske i konvencionalne holecistektomije“**

kandidata ass. dr Sr ana Mijatovi a, zaposlenogu u Klinici za bolesti digestivnog sistema, Klinički Centar Srbije. Mentor je Prof. dr Branislav Stefanovi .

Komisija za ocenu završene doktorske disertacije imenovana je u sastavu:

1. Akademik prof. dr Predrag Peško, profesor Medicinskog fakulteta u Beogradu
2. Prof. dr Vladimir ūki , profesor Medicinskog fakulteta u Beogradu
3. Prof. dr Milorad Pavlovi , profesor Medicinskog fakulteta u Beogradu, u penziji

Na osnovu analize priložene doktorske disertacije, komisija za ocenu završene doktorske disertacije jednoglasno podnosi Nau nom ve u Medicinskog fakulteta slede i:

## IZVEŠTAJ

### A) Prikaz sadržaja doktorke disertacije

Doktorska disertacija dr Sr ana Mijatovi a napisana je na ukupno 117 strana i podeljena je na slede a poglavlja: uvod, ciljevi rada, materijal i metode, rezultati, diskusija, zaključci i literatura. U disertaciji se nalazi ukupno 21 tabela, jedan algoritam i 24 slike. Doktorska disertacija sadrži sažetak na srpskom i engleskom jeziku, biografiju kandidata, podatke o komisiji i spisak skra enica koriš enih u tekstu.

U **uvodu** je definisano šta je upala žu ne kese, koji tipovi upale žu ne kese postoje i kakve smetnje imaju osobe koje imaju zapaljenje žu ne kese. Takođe je jasno opisan istorijat i epidemiologija holecistitisa, anatomija bilijarnog trakta kao i histološka gradnja zida žu ne kese. Navedena je detaljna klasifikacija upale žu ne kese prema etiologiji i prema morfologiji. Takođe je prikazan multifaktorijski scoring sistem za procenu težine holecistitisa sa postavljenim algoritmom. Na adekvatan na in je u potpunosti opisano hirurško

le enje paležu neke minimalno invazivnom metodom i konvencionalnom (klasi nom) ukljuju i: indikacije, preoperativnu pripremu, tip anestezije, samu hiruršku tehniku, materijala za operativno le enje, kao i o ekivani postoperativni ishod.

Tako e je prikazan detaljan osvrt na dosadašnja saznanja vezana za kvalitet života povezan sa zdravljem uopšte i na kvalitet života povezan sa posledicama upale žu ne kese. Standard u postavljanju indikacije za operativni le enjem zapaljenja žu ne kese i nekline kaslika, laboratorijski rezultati i ehosonografski nalaz abdomena. Operativno le enje se vršilo na dva na ina i to minimalno invazivnom tehnikom (laparoskopika) i klasi nom (otvorenom) metodom. Detaljno je opisana uloga interleukina i njihovaproinflatorna i antiinflatorna delovanja. Pored navedenih, u uvodu su opisana svojstva biomarkera inflamacije (CRP) i markera oksidativnog stresa (NO, NT) .

**Ciljevirada** su precizno definisani. Sastoj se od ispitivanja proinflatornih i antiinflatornih vrednosti citokina, biomarkera inflamacije i oksidativnog stresa u odnosu na dve grupe ispitanika i to jedne grupe koja je operativno le ena minimalno invazivnom ( laparoskopikom) metodom i druga grupa koja je operativno le ena otvorenom ( klasi nom metodom) . Takođe kao cilj rada bilo je potrebno dokazati da je laparoskopika holecistektomija „zlatni standard“ za le enje pacijenata sa holelitijazom.

U poglavlju **materijal i metoda** navedeno je da se radi o studiji koja je dizajnirana kao prospektivna. Izvedena je na pacijentima Klinike za urgentnu hirurgiju Urgentnog centra Klini kog Centra Srbije. Grupa ispitanika broji 60 bolesnika koji su podeljeni u dve grupe. Prvu grupu sa injavaju pacijenti koji su operativno tretirani, kod kojih je u injena klasi na holecistektomija a druga grupa su pacijenti kod kojih je u injena laparoskopika holecistektomija. U studijsku grupu ušli su bolesnici starosti 36-78 god, koji nisu imali sistemska ni maligna oboljenja. Iz studije su tako e isklju eni pacijenti sa ikterusom. Studija je izvedena multidisciplinarno (hirurg, anesteziolog, radiolog, biohemikar, imunolog, statistikar).

Kod svih pacijenata su pra ena po 22 parametara podeljenih u 4 grupe: demografski, kliniki, operativni, laboratorijski.

Od demografskih parametara od zna aja za studiju su bili pol i godištepacijenata.

Pra eni su kliniki parametri ( krvni pritisak, puls, telesna temperatura) .

Od operativnih parametara pra eni su kardiovaskularni i respiratorni efekti u anti Trendelenburgovom položaju nakon kreiranja pneumoperitoneuma.

Radiografske metode: nativni snimak, ultrasonografija abdomena, CT abdomena,

Praene su tri grupe laboratorijskih analiza:

- standardne biohemijske analiza (Krvna slika sa leukocitarnom formulom, INR, aPTT, urea, kreatinin, Na, K, Cl, Ca, AST, ALT, alfa amilaza, alkalna fosfataza, bilirubin direktni i ukupni) .
- praenje nivoa proinflatomih i antiinflatomih citokina.
- merenje stres oksidativnih markera

U poglavlju **rezultati** detaljno su opisani i jasno predstavljeni svi dobijeni rezultati.

**Diskusija** je napisana jasno i pregledno, uz prikaz podataka drugih istraživanja sa uporednim pregledom dobijenih rezultata doktorske disertacije.

**Zaključci** sažeto prikazuju najvažnije nalaze koji su proistekli iz rezultata rada. Korišena literatura sadrži spisak od 110 referenci.

## **B) Kratak opis postignutih rezultata**

Odredjivanje opštih karakteristika ispitanika ukazuje da nije uočena značajna statistička razlika u starosti ispitanika, između analiziranih grupa pacijenata sa operacijom žučne kese, operisane laparoskopski i klasičnom naotvorenom. Između analiziranih grupa nije uočena statistički značajna razlika u polu ispitanika dok je u grupi sa laparoskopskom operacijom bilo više žena nego u grupi sa klasičnom operacijom. Nije postojala razlika u statističkom značenju u BMI između analiziranih ispitanika. Statistički značajna razlika uočena je u trajanju operacije između posmatranih grupa bolesnika gde je statistički značajna razlika uočena kod bolesnika sa klasičnom operacijom gde je vreme operacije u znatnoj meri bilo produženo. Posmatrajući i parametre inflamacije vrednosti, broja leukocita preoperativno nisu se statistički značajno razlikovale između analiziranih grupa bolesnika, 24 sata nakon operacije kao i 72 sata nakon operacije, statistički značajne vrednosti broja leukocita bile su u grupi ispitanika sa klasičnom operacijom žučne kese. Nije uočena statistički značajna razlika u vrednostima CRP-a između analiziranih grupa ispitanika dok je vrednost CRP-a izmerena 24 i 72 h posle operacije značajno se razlikovala između ispitanika sa klasičnom operacijom i sa laparoskopskom operacijom. Značajne vrednosti ovog parametra izmerene su kod ispitanika sa klasičnom operacijom. Upoređujući i promene vrednosti TNF- $\alpha$ , IL-1, IL-2, IL-4, IL-5, IL-6, IL-9, IL-10, IL-12, IL-13, IL-17, IL-22, IFN- $\gamma$  i TGF- $\beta$  kod pacijenata operisanih

laparoskopski i klasi no, koji su pra eni u tri vremenska perioda ustanovljeno je da proinflatarni i antiinflatarni citokini ukazuju da postoji statisti ki zna ajna razlika izmedju dve grupe ispitanika, s tim što je tendencija rasta navedenih parametara bila izraženija kod grupe koja je operisana klasi nom metodom. Nakon ispitivanja vrednosti markera azotnog oksidativnog stresa, ustanovljeno je da postoji statisti ki zna ajna razlika u vrednostima nitrotirozinaze (NT) u periodu od 24 asa postoperativno kod grupe operisane klasi nom metodom, dok u ostalim izmerenim vrednostima nije bilostatisti kizna ajnerazlike. Nakon ispitivanja vrednosti azot monoksida (NO) nije pronadjena statisti ki zna ajna razlika u vrednostima kod obe grupe.

### **C) Uporedna analiza doktorske disertacije sa rezultatima iz literature**

Prema do sada ispitivanim vrednostima parametara inflamacije i TNF spada u citokine koji imaju ulogu u regulaciji akutne faze inflamacije. TNF- je citokin koji se lu i u ve em broju elija ali su njegov glavni izvor makrofagi i monociti. On reaguje sa mnoštvom drugih citokina kao sto su IT-1, interleukin-6 (IL-6), i faktor aktivacije trombocita (PAF), i ima klju nu ulogu u inflamatornom odgovoru Zbog kratkog poluživota u plazmi detekcija ovog markera predstavlja problem. Shodno tome, nedetektabilnost ili niski nivoi TNF u serumu ne pokazuju uzajamnu vezu sa stvarnim dešavanjima u organizmu . Studija u kojoj su ispitivane vrednosti IL-6 I TNF kod 30 pacijenata kod kojih je u injena holecistektomija, od toga 14 je operisano klasi nom metodom, a 16 laparoskopski. Uzorci krvi su uzimani preoperativno, nakon 4 i nakon 24 asa postoperativno gde je pokazan zna ajniji porast navedenih parametara kod grupe koja je operisana klasi nom metodom što bi moglo da ukaže da laparoskopska hirurgija uzrokuje manji stres u odnosu na klasi nu metodu ( Haq i saradnici; 2004) .Interleukin 4 (IL-4) stvaraju Th 2 elijska subpopulacija CD 4 „helper“ limfocita ija je osnovna funkcija da pokrene diferencijaciju TH 2 elija od CD 4 prekursora, da stimuliše B elije u stvaranju IgE antitela i IgG1 kao i da suprimira funkcije makrofaga koje zavise od posredovanja interferona . Po svojoj strukturi IL-4 poseduje globularnu formu koja je stabilizovana sa tri disulfidne veze. Signali koji omogu avaju navedeni efekat IL-4 se prenose preko IL-4R receptora i postoje etiri podtipa IL-4R . Njegovo efekat je suprotan efektu INF te na taj na in IL-4 podstice humoralni, a inhibira celularni imuni odgovor. U jednoj studiji u kojoj su pore ene vrednosti leukocita, IL-4, IL 6, IL-10 i IFN preoperativno i prvog postoperativnog dana kod pacijenata kod kojih je u injena laparoskopska holecistektomija gde nije utvr ena zna ajna razlika u vrednostima IFN , IL-4 i IL 10 ali je utvr en zna ajan skok IL 6. Sli ni rezultati su dobijeni u studiji u kojoj su Helmy i

saradnici ispitivali razlike vrednosti IL1 ,IL 2, IL 4, IL 6,TNF i INF kod pacijenata operisanih klasi nom metodom i laparaskopski ali i utvr ivanje postojanje uticaja opšte intravenske anestezije na imunosupresiju koja nastaje zbog hirurške intervencije. U navedenoj studiji je tako e pokazano da opšta intravenska anestezija nije dovela do zna ajnijeg efekta na promenu vrednosti IL-1 , IL-4, IL-6, TNF- i IFN- ali se uo io pad IL-2 koji je bio povezan sa uticajem anestezije dok je kod grupe operisane klasi nom metodom postojao zna ajan skok i anti i proinflamatornih citokina postoperativno što bi dodatno moglo da govori u prilog tome da laparaskopska hirurgija dovodi do manje imunosupresije (Helmey i sar. 1999 ).U našoj studiji nisu se zna ajno razlikovale bazalne vrednosti ovog parametra kod obe grupe preoperativno U periodu izme u 24<sup>h</sup> i 72<sup>h</sup> nakon operacije, niže vrednosti ovog parametra zabeležene su kod ispitanika operisanih laparaskopski. Vrednosti NT kod ispitanika sa laparaskopskom operacijom žu ne kese nisu se statisti ki zna ajno menjale u periodu do 72<sup>h</sup> postoperativno, Kod ispitanika operisanih klasi no uo eno je da su se vrednosti NT tokom prvih 24<sup>h</sup> posle operacije zna ajno pove ele a zatim u naredna 24<sup>h</sup> došlo je do zna ajnog smanjenja vrednosti ovog parametra. Izme u preoperativnih vrednosti NT izmerenih u ovoj grupi ispitanika i vrednosti izmerenih 72h posle operacije nismo uo ili statisti ki zna ajnu razliku. Rezultati dobijeni u dve strane studije ukazuju na porast markera oksidativnog stresa u grupi pacijenata koji su operisani klasi nom holecistektomijom, ali su potrebne dalje multicentri ne randomizovane studija (Stipan i i sar; 2005) , (Hong i sar.. 2016) .

#### **D) Objavljeni radovi koji ine deo doktorske disertacije**

Influence of surgical trauma on nitric oxide and nitrotyrosine serum levels in patients undergoing laparoscopic or conventional cholecystectomy, J Med Biochem 36: 1–6, 2017

DOI: 10.1515/jomb-2017-0004

**SrdjanMijatovic, Tamara Alempijevic, Branislava Stefanovic, Vasilije Jeremic, Slobodan Krstić , Nikola Radmanović , Sanja Jovanović ' and Branislav Stefanovic**

## **E) Zaključak (obrazloženo naučno doprinosa)**

Doktorska disertacija „Proinflamatorni i antiinflamatorni citokini kao pokazatelji operativne traume i stepena tkivnog oštećenja kod laparoskopske i konvencionalne holecistektomije“ as.dr Srana Mijatovića, kao prvi ovakav rad u našoj populaciji predstavlja originalni naučni doprinos u razumevanju uticaja proinflamatornih i antiinflamatornih citokina kao pokazatelja operativne trauma i stepena tkivnog oštećenja kod laparoskopske i konvencionalne holecistektomije. Promene koncentracije NO i NT u merenjima u našoj studiji u obe grupe nisu pokazale statističku značajnost što korelira sa rezultatima iz poznate literature. Potrebne se dalje multicentrične studije. Laparoskopska operacija se smatra „zlatnim standardom“ za lečenje pacijenata sa holecistolitijazom zbog smanjenog postoperativnog bola, kraćim vremenom oporavka postoperativno, manjim brojem dana provedenih u bolnici koji pokazuju značajnu ekonomsku opravdanost ove metode.

Ova doktorska disertacija je urađena prema svim principima naučnog istraživanja. Ciljevi su bili precizno definisani, naučni pristup je bio originalan i pažljivo izabran, a metodologija rada je bila savremena. Rezultati su pregledno i sistematično prikazani i diskutovani, a iz njih su izvedeni odgovarajući zaključci.

Na osnovu svega navedenog, i imajući u vidu dosadašnji naučni rad kandidata, komisija predlaže Naučnom vešću u Medicinskog fakulteta Univerziteta u Beogradu da prihvati doktorsku disertaciju as.dr Srana Mijatovića i odobri njenu javnu odbranu rad isticanja akademskog titule doktor medicinskih nauka.

U Beogradu, 27.3.2017

Članovi Komisije:

Mentor: Prof.dr Branislav Stefanović

Akademik prof.dr Predrag Peško

Komentor: Prof.dr Vladimir Trajković

Prof.dr Vladimir Čukić

Prof.dr Milorad Pavlović