

NAUČNOM VEĆU MEDICINSKOG FAKULTETA  
UNIVERZITETA U BEOGRDU

Na sednici Naučnog veća Medicinskog fakulteta u Beogradu, održanoj dana 11.03.2020. godine, broj 9700/07-MS, imenovana je komisija za ocenu završene doktorske disertacije pod naslovom:

**„Povezanost karakteristika intraluminalnog tromba prikazanih magnetnom rezonancijom sa njegovim biohemijskim odlikama i morfološkim osobenostima zida infrarenalne aneurizme abdominalne aorte“**

kandidata dr Miloša Sladojevića, zaposlenog u Klinici za vaskularnu i endovaskularnu hirurgiju Kliničkog centra Srbija. Mentor je prof. dr Lazar Davidović, komentor prof. dr Ružica Maksimović

Komisija za ocenu završene doktorske disertacije imenovana je u sastavu:

1. Prof. dr Dušan Kostić, profesor Medicinskog fakulteta u Beogradu
2. Doc. dr Igor Končar, docent Medicinskog fakulteta u Beogradu
3. Doc. dr Marko Dragaš, docent Medicinskog fakulteta u Beogradu
4. Doc. dr Željka Stanojević, docent Medicinskog fakulteta u Beogradu
5. Prof. dr Aleksandar Tomić, profesor Medicinskog fakulteta VMA

Na osnovu analize priložene doktorske disertacije, komisija za ocenu završene doktorske disertacije jednoglasno podnosi Naučnom veću Medicinskog fakulteta sledeći

## IZVEŠTAJ

### A) Prikaz sadržaja doktorke disertacije

Doktorska disertacija dr Miloša Sladojevića napisana je na ukupno 106 strana i podeljena je na sledeća poglavlja: uvod, ciljevi istraživanja, materijal i metode, rezultati, diskusija, zaključci i literatura. U disertaciji se nalazi ukupno 43 tabele i 27 slika. Doktorska disertacija sadrži sažetak na srpskom i engleskom jeziku, biografiju kandidata i podatke o komisiji.

U **uvodu** je definisano šta se podrazumeva pod infrarenalnom aneurizmom abdominalne aorte. Navedena je detaljna klasifikacija aneurizmske bolesti abdominalne aorte na osnovu ekstenzivnosti, etiologije, kao i morfoloških karakteristika. Istaknute su epidemiološke

karakteristike ovog oboljenja, a na adekvatan način je objašnjena etiologija, patogeneza, kao i njen prirodni tok. Indikacije za hirurški tretman su jasno navedene. Posebno je apostrofiran i objašnjen značaj rupture kao najznačajnije komplikacije i pravovremene operacije u cilju njene prevencije. Objašnjen je značaj individualne procene rizika od rupture, a detaljno je opisana uloga intraluminalnog tromba koji svojim biomehaničkim i proteolitičkim osobinama utiče na zid aneurizme i doprinosi njegovoj razgradnji i slabljenju. U diferencijaciji različitih tipova intraluminalnih trombova, od koje zavisi njihova proteolitička aktivnost, istaknuta je uloga magnetne rezonancije koja omogućava razlikovanje trombova na osnovu registrovanih intenziteta signala.

**Ciljevi rada** su precizno definisani i sastoje se u utvrđivanje povezanosti intenziteta signala intraluminalnog tromba i njegove biološke aktivnosti (izražene kroz koncentraciju proteolitičkih enzima – neutrofilna elastaza i MMP-9), kao i povezanost intenziteta signala intraluminalnog tromba sa sastavom aneurizmatskog zida izraženom kroz sadržaj kolagena, elastina i proteoglikana. Takođe, kao cilj rada navedeno je i utvrđivanje povezanosti biološke aktivnosti intraluminalnog tromba i sastava zida aneurizme.

U poglavlju **materijal i metode** navedeno je da se radi o studiji preseka koja je sprovedena u Klinici za vaskularnu i endovaskularnu hirurgiju Kliničkog centra Srbije. Ova studija je sprovedena u skladu sa Helsinškom deklaracijom, a odobrena je i od strane Etičkog komiteta Medicinskog fakulteta Univerziteta u Beogradu (No 29/V-18). Svi pacijenti su dali pisani pristanak pre uključanja u studiju. Detaljno su definisani posmatrani parametri (demografske karakteristike bolesnika, klinički značajan komorbiditet i hronična preoperativna medikamentozna terapija), kao i kriterijumi za uključivanje i isključivanje iz studije. Adekvatno je opisan protokol pregleda magnetnom rezonancom kojim su pregledani svi pacijenti sa aneurizmom abdominalne aorte uključeni u studiju. Detaljno je objašnjen način intraoperativnog uzimanja uzoraka zida aneurizme i intraluminalnog tromba kao i princip čuvanja do biohemijskog analiziranja. Proces homogenizacije tkiva i određivanja koncentracije proteolitičkih enzima (neutrofilne elastaze, MMP-9 i MMP-2) u intraluminalnom trombu i aortnom zidu, kao i određivanje koncentracije građivnih komponenti aortnog zida (kolagen, elastin i proteoglikan) ELISA testom su jasno objašnjeni. Takođe je opisan način određivanja nivoa oksidativnog stresa u zidu aneurizme koji je izražen kroz koncentraciju malonildialdehida i aktivnost katalaze.

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.

Korišćena **literatura** sadrži spisak od 196 referenci.

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

Rezultati ovog istraživanja govore o statistički značajno većoj koncentraciji MMP-9 i neutrofilne elastaze u intraluminalnom trombu nego u zidu aneurizme abdominalne aorte (MMP-9:  $1923.71 \pm 339.33$  vs.  $1696.15 \pm 489.73$  pg/ml,  $P=0.007$ ; neutrofilna elastaza:  $15.72$  vs.  $11.28$  ng/ml,  $P<0.001$ ). Suprotno, pokazana je značajno veća koncentracija MMP-2 u aortnom zidu u poređenju sa intraluminalnim trombom ( $14.77$  vs.  $30.69$  pg/ml,  $P<0.001$ ). Istraživanjem je utvrđena pozitivna korelacija između relativnog intenziteta signala intraluminalnog tromba i koncentracije neutrofilne elastaze u trombu ( $\rho=0.309$ ,  $P=0.029$ ), kao i negativna korelacija sa koncentracijom elastina u zidu aneurizme ( $\rho=-0.300$ ,  $P=0.034$ ).

Značajna korelacija između relativnog intenziteta signala intraluminalnog tromba i koncentracije MMP-9 u trombu nije utvrđena. Takođe, nije nađena značajna povezanosti između relativnog intenziteta signala intraluminalnog tromba i koncentracije MMP-9, neutrofilne elastaze, kolagena tip III i proteoglikana u zidu aneurizme abdominalne aorte. Ostali parametri analizirani magnetnom rezonancom u ovom istraživanju (najveći dijametar aneurizme i količina intraluminalnog tromba izražena kroz relativnu površinu tromba na aksijalnom preseku u nivou najvećeg dijametra aneurizme) nisu pokazali značajnu korelaciju sa koncentracijama proteolitičkih enzima i komponentama ekstracelularnog matriksa.

Utvrđena je značajna negativna korelacija između koncentracije MMP-9 ( $\rho=-0.449$ ,  $P<0.01$ ) i neutrofilne elastaze ( $\rho=-0.306$ ,  $P=0.031$ ) u intraluminalnom trombu i koncentracije elastina u zidu aneurizme.

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

Ako se izuzme rad Nchimi-a (Nchimi i sar, 2010.) u kome je korišćen specifičan pregled magnetnom rezonancom sa SPIO (superparamagnetic iron oxide) kontrastnim sredstvom, do sada nisu objavljene studije koje su ispitivale mogućnost magnetne rezonance u proceni biološke (proteolitičke) aktivnosti intraluminalnog tromba ili ispitivale korelaciju između

karakteristika intraluminalnog tromba prikazanih magnetnom rezonancom i strukture zida aneurizme.

Prethodne studije su pokazale da neutrofilu u trombu proizvode neutrofilnu elastazu i MMP-9 u visokim koncentracijama što može doprineti razgradnji ekstracelularnog matriksa aortnog zida (Fontaine i sar, 2004.). Slično kao i u ranije publikovanoj studiji (Piechota-Polanczyk i sar, 2015.) i u ovom istraživanju je potvrđena statistički značajno veća koncentracija neutrofilne elastase i MMP-9 u intraluminalnom trombu u poređenju sa koncentracijom u zidu aneurizme. Zbog veće koncentracije ovih enzima u intraluminalnom trombu pretpostavljeno je da oni mogu difundovati iz tromba u zid aneurizme i doprineti njegovoj razgradnji. S obzirom na to da MMP-2 dominantno proizvode glatke mišićne ćelije iz medije aortnog zida, ranija istraživanja (Lesauskaite i sar, 2006.) su utvrdila veću koncentraciju MMP-2 u aortnom zidu što je potvrđeno i u ovom radu. Stoga je pretpostavljeno da MMP-2 proizvodjena u trombu verovatno ima zanemarljivu ulogu u razgradnji aortnog zida i ne može se smatrati markerom biološke aktivnosti tromba.

U ovom istraživanju pregled magnetnom rezonancom sa uobičajenim kontrastnim sredstvom je korišćen za klasifikovanje intraluminalnog tromba na osnovu njegovog relativnog intenziteta signala koji predstavlja odnos između intenziteta signala tromba i intenziteta signala levog velikog slabinskog mišića. Relativni intenzitet signala kao parameter za diferencijaciju intraluminalnog tromba predložili su i drugi autori (Nguyen i sar, 2014; de la Motte L i sar, 2013.). U pomenutoj studiji (Nguyen i sar, 2014.) pokazano je da su trombovi sa visokim intenzitetom signala svežiji i bogatiji krvnim ćelijama. Takođe, isti autori su našli da aneurizme sa trombom većeg intenziteta signala karakteriše brži porast i veća inflamacija aortnog zida. Koristeći isti način pregleda magnetnom rezonancom, autor je u ovom istraživanju pokazao da trombovi sa većim intenzitetom signala imaju veću koncentraciju MMP-9 i manju koncentraciju elastina u zidu aneurizme.

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

Sladojevic M, Stanojevic Z, Koncar I, Zlatanovic P, Vidicevic S, Tosic J, Isakovic A, Markovic M, Davidovic L. Magnetic resonance imaging assessment of proteolytic enzyme concentrations and biologic properties of intraluminal thrombus in abdominal aortic aneurysms. *J Vasc Surg.* 2020 doi: 10.1016/j.jvs.2019.11.032.

## **E) Zaključak (obrazloženje naučnog doprinosa)**

Doktorska disertacija „Povezanost karakteristika intraluminalnog tromba prikazanih magnetnom rezonancijom sa njegovim biohemijskim odlikama i morfološkim osobenostima zida infrarenalne aneurizme abdominalne aorte“ dr Miloša Sladojevića, kao prvi ovakav rad u našoj populaciji predstavlja originalni naučni doprinos u razumevanju biološke aktivnosti intraluminalnog tromba i njen uticaja na zid aneurizme abdominalne aorte. Rezultati ovog istraživanja pokazuju moguću ulogu magnetne rezonance u proceni biološke aktivnosti intraluminalnog tromba i sastava zida aneurizme jer relativni intenzitet signala intraluminalnog tromba veći od 0.925 na T1W sekvenci upućuje na veću koncentraciju neutrofilne elastaze u trombu i manji sadržaj elastina u aortnom zidu. Takođe treba naglasiti da je veća biološka aktivnost intraluminalnog tromba procenjena na osnovu koncentracije neutrofilne elastaze i MMP-9 povezana sa manjom koncentracijom elastina u zidu aneurizme, te se može pretpostaviti da ove aneurizme imaju veću sklonost ka širenju i pucanju. Pregled magnetnom rezonancom tako može pružiti dodatne informacije za individualnu procenu rizika od rupture aneurizme abdominalne aorte, te se od budućih studija očekuje da ovu dijagnostičku metodu detaljnije utvrde i ispituju.

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 veću Medicinskog fakulteta Univerziteta u Beogradu da prihvati doktorsku disertaciju dr Miloša Sladojevića i odobri njenu javnu odbranu radi sticanja akademske titule doktora medicinskih nauka.

U Beogradu, 10.04.2020.

Članovi Komisije:

Prof. dr Dušan Kostić

---

Doc. dr Igor Končar

---

Doc. dr Marko Dragaš

---

Doc. dr Željka Stanojević

---

Prof. dr Aleksandar Tomić

---

Mentor:

Prof. dr Lazar Davidović

---

Komentor:

Prof. dr Ružica Maksimović

---