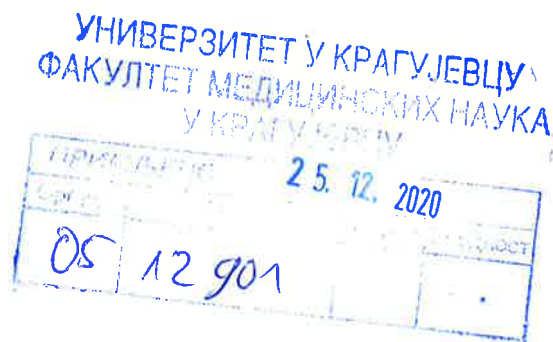


**УНИВЕРЗИТЕТ У КРАГУЈЕВЦУ**  
**ФАКУЛТЕТ МЕДИЦИНСКИХ НАУКА**  
**НАСТАВНО-НАУЧНОМ ВЕЋУ**



**1. Одлука Већа за медицинске науке Универзитета у Крагујевцу**

Одлуком Већа за медицинске науке Универзитета у Крагујевцу, број IV-03-830/18 од 18.11.2020. године, именовани су чланови комисије за оцену научне заснованости теме докторске дисертације кандидата **Кристине Андрић** под називом:

**„Морфолошке и микробиолошке промене конзервираног хуманог трансплантата  
коже“**

На основу одлуке Већа за медицинске науке, формирана је комисија у саставу:

1. **Доц. др Слађана Павловић**, доцент Факултета медицинских наука Универзитета у Крагујевцу за ужу научну област Микробиологија и имунологија, председник;
2. **Доц. др Весна Миличић**, доцент Факултета медицинских наука Универзитета у Крагујевцу за ужу научну област Дерматовенерологија, члан;
3. **Проф. др Бобан Ђорђевић**, редовни професор Медицинског факултета Војномедицинске академије Универзитета одбране у Београду за ужу научну област Пластична и реконструктивна хирургија, члан.

На основу увида у приложени документацију, Комисија подноси Наставно-научном већу Факултета медицинских наука Универзитета у Крагујевцу следећи

## **2. Извештај о оцени научне заснованости теме докторске дисертације**

### **2.1. Кратка биографија кандидата**

Кристина Андрић рођена је 01.12.1990. године у Приштини. Основну школу и Гимназију завршила је у Косовској Митровици. Факултет медицинских наука у Крагујевцу уписала је 2009. године. У току студија била је ангажована као студент демонстратор на предмету Хистологија са ембриологијом школске 2010/2011. године на Факултету медицинских наука у Крагујевцу. Била је стипендиста Министарства просвете, науке и технолошког развоја школске 2011/2012. и 2012/2013. године. Дипломирала је 2016. године, са просечном оценом 9,07 и стекла звање доктора медицине. Докторске академске студије на Факултету медицинских наука, изборно подручје Експериментална и примењена физиологија са спортском медицином, уписала је 2016. године.

Обавезни лекарски стаж обавила је у Дому здравља Крагујевац и у Клиничком центру Крагујевац. Положила је стручни испит пред комисијом Министарства здравља Републике Србије 2017. године. Волонтирала је у Центру за дерматовенерологију, Клиничког центра Крагујевац током 2017. и 2018. године.

Уписала је здравствену специјализацију из Дерматовенерологије у новембру 2018. године. Од 2019. године обавља послове фацилитатора на Катедри за дерматовенерологију. Од маја 2020. године у сталном радном односу у Центру за Дерматовенерологију Клиничког центра Крагујевац.

### **2.2. Наслов, предмет и хипотезе докторске тезе**

**Наслов:** „Морфолошке и микробиолошке промене конзервираног хуманог трансплантата коже“

**Предмет:** Испитивање морфолошких и микробиолошких промена конзервираних трансплантата делимичне дебљине коже у циљу детерминације оптималног временског периода за њихово чување, као и испитивање повезаности наведених промена са параметрима оксидационог стреса у циљу разумевања молекулских механизма који посредују у прихватању или одбацивању трансплатата.

#### **Хипотезе:**

- Постоје патохистолошке промене трансплантата делимичне дебљине коже након 3, 7, 14, 21 и 28-ог дана од конзервирања.
- Постоји колонизација трансплантата делимичне дебљине коже микробиолошким агенсима након 3, 7, 14, 21 и 28-ог дана од конзервирања.
- Постоје промене вредности параметара оксидационог стреса: супероксид ањон радикала ( $O_2^-$ ), водоник пероксида ( $H_2O_2$ ), индекса липидне пероксидације (TBARS), нитрита ( $NO_2^-$ ), као и активности ензима антиоксидационе заштите: супероксид дисмутазе (SOD) и каталазе (CAT) и ниво редукованог глутатиона (GSH) у крви непосредно пред оперативни захват узимања трансплантата и након 7 дана од операције.
- Постоји корелација између наведених патохистолошких, микробиолошких и биохемијских параметара.

### **2.3. Испуњеност услова за пријаву теме докторске дисертације**

Кандидат, Кристина Андрић, је објавила рад у целини у часопису категорије M23, у коме је први аутор, чиме је стекла услов за пријаву теме докторске дисертације.

- **Andrić K**, Kozarski J, Stanković V, Spasić M, Rakić V, Vulović D. Large hemangiopericytoma of the shoulder: a case report. *Vojnosanit Pregl.* 2020; doi: 10.2298/VSP200530073A. **M23**

### **2.4. Преглед стања у подручју истраживања**

Трансплантација коже је најчешћа операција у трансплантационој хирургији. Примењује се свакодневно у пластичној хирургији, превасходно у трауматологији и онкологији. Главна индикација је дефект коже који се не може збринати директном сутуром, а такви дефекти су обично последица авулзивне повреде, опекотине или ексцизије већег тумора коже. Рутински метод представља узимање аутотрансплантата делимичне дебљине коже у већем обиму него што је величина дефекта коже, било да би се, као конзервиран, пласирао у дефект одложено, или да би послужио као резерва у случају да се примарно постављен трансплантат не прихвати. Аутографтови коже се састоје од целог епидерма и дермалне компоненте променљиве дебљине. Класификују се на трансплантате делимичне дебљине коже (eng. *split thickness skin graft* - STSG) и

трансплантате целе дебљине коже (eng. *full-thickness skin graft* - FTSG). Трансплантати делимичне дебљине коже (STSG) садрже епидерм и површни део дерма и на основу дебљине категоришу као танки (0.2-0.3 mm), средњи (0.3-0.45 mm) или дебели (0.45-0.75 mm). Избор врсте графта зависи од стања, локализације, дебљине и величине ране као и естетских потреба. У пракси се најчешће користи STSG средње дебљине. Обзиром да имају мање метаболичке потребе, STSG захтевају мање идеалне услове за преживљавање и имају много шири спектар примене од FTSG.

Трансплантати делимичне дебљине коже се користе за покривање чистих рана меких ткива праћених дефектом, опекотина, првествено коже, али се могу употребити и за дефекте слузокоже, као на пример у реконструкцији хипоплазије или аплазије вагине. STSG се узима операцијом са било које површине тела, најчешће са натколенице и то обично њене медијалне стране затим са надлактице, глутеалне регије, а код већих опекотина са било код дела тела где постоји неповређена кожа. Ипак, ови графтови су некада крхки, поготово уколико се наносе на подручја са мало меких ткива и обично не могу да издрже каснију радијациону терапију. Такође, имају склоност ка контракцији, као и хипо- и хиперпигментацији. У естетске недостатке се убраја и њихова прозирност, абнормална пигментација и одсуство глатке кожне текстуре и длака. STSG се не користе код инфицираних рана и рана са откривеним костима без периоста, хрскавица без перихондријума и тетива без паратенона, као и у прегибним регијама. Када се користе за покривање рана на лицу могу попримити неприродан изглед маске, са непогодним естетским резултатом.

## **2.5. Значај и циљ истраживања**

Значај предложеног истраживања се огледа у бољем разумевању морфолошких и микробиолошких промена конзервираних трансплантата делимичне дебљине коже које настају током њиховог чувања, као и детерминацији временског периода до ког је очуваност трансплатата оптимална. Поред тога, биохемијске промене у организму, као показатељи промена оксидационог статуса ће се анализирати како би се утврдило да ли постоји повезаност са морфолошким и микробиолошким променама трансплатата, што би допринело бољем разумевању механизма укљученим у процес прихватања или одбацивања трансплатата.

Циљеви истраживања подразумевају:

1. Испитати патохистолошке карактеристике трансплатата делимичне дебљине коже након 3, 7, 14, 21 и 28-ог дана од конзервирања.
2. Утврдити микробиолошке карактеристике трансплатата делимичне дебљине коже након 3, 7, 14, 21 и 28-ог дана од конзервирања.
3. Одредити вредности биохемијских параметара оксидационог стреса: супероксид анион радикала ( $O_2^-$ ), водоник пероксида ( $H_2O_2$ ), индекса липидне пероксидације (TBARS) и нитрита ( $NO_2^-$ ), ензима антиоксидационе заштите – супероксид димутаза (SOD), каталазе (CAT), као и редукованог глутатиона (GSH) у крви, непосредно пред оперативни захват узимања трансплатата и након 7 дана од операције.
4. Утврдити корелацију између наведених патохистолошких, микробиолошких и биохемијских параметара.
5. На основу добијених резултата утврдити након ког временског периода је вијабилност препарата најадекватнија а тиме и најефикасније прихватање трансплатата.

## 2.6. Веза истраживања са досадашњим истраживањима

Чување STSG представља важну процедуру у хируршком збрињавању опекотина и већих дефеката коже друге етиологије. Уколико се одмах не користе према општим препорукама ови трансплантати се стављају у стерилну посуду, у газу натопљену физиолошким раствором и чувају у фрижидеру на температури од 4 – 6 °C. Поједини аутори уместо физиолошког раствора облажу газу раствором хистидин-триптофан-кетоглутаратом у циљу боље очуваности графта. Очуваност коже за време и након њеног чувања је очекивано један од главних задатака и брига приликом трансплантације STSG. Ово питање привлачи све већу пажњу научне јавности и до сада нажалост остаје без конкретног и усаглашеног одговора, са прилично оскудним подацима. Неколико студија је проучавало утицај различитих медијума, температура и дужине чувања STSG-а на вијабилност препарата. Заједнички именовани сазнања свих ових истраживања је да временом неизоставно настаје смањење очуваности препарата без обзира на све поменуте услове и факторе. Такође, као један од најрелевантнијих и најнепознатијих фактора, поред температуре чувања и одговарајућег медијума, се наводи временски период конзервирања STSG-а. Смернице релевантних центара у којима се ове процедуре одвијају а којих се

придржава Центар за пластичну хирургију КЦ Крагујевац јесу да се STSG чува до 21 дан. Ипак, консензус око временског периода не постоји као ни писана доктрина. Значај овог питања се огледа и у чињеници да се проценом дужине чувања STSG може између осталог објаснити зашто се код одређеног броја пацијената примећује неадекватна очуваност, или одбацивање трансплантанта. Претходна истраживања су указала да се након 28 дана конзервирања STSG-а губи до 50% морфо-функционално валидних кератиноцита. Са друге стране, други истраживачи у истим условима (температура од 4°C, физиолошки раствор) наводе да већ након десет дана више од 90% STSG-а није вијабилно и тиме адекватно за употребу. Осим тога, временски интервали у којима се запажају почетне промене (појачана апоптоза и смањен степен пролиферације) су најчешће 7. и 14. дан. Вијабилност препарата коже се процењује путем хистолошких анализа у којима се пре свега проучава њен интегритет, промене на целуларном нивоу епидермиса и епидермално-дермалног споја и васкуларна мрежа. Међутим, поред хистолошких потпуно сврсисходним се намеће и питање микробиолошке очуваности трансплантанта о чему се веома мало зна.

## **2.7. Методе истраживања**

### **2.7.1. Врста студије**

Реч је о проспективној клиничкој студији која би била реализована у Центру за пластичну хирургију у Клиничком центру Крагујевац.

### **2.7.2. Популација која се истражује**

Студија ће обухватити 80 здравих испитаника који ће бити сврстани према полу у две једнаке групе (по 40 у групи).

Критеријуми за искључење из истраживања су следећи:

1. старост: > 18 и < 65 година
2. присуство било ког облика кожне болести
3. *diabetes mellitus*
4. присуство било ког облика васкулопатије
5. дуготрајна терапија кортикостероидима

Свим испитаницима ће се узети анамнеза, узорак крви за лабораторијске анализе и обавити физикални преглед у Центру за пластичну хирургију Клиничког центра Крагујевац.

### 2.7.3. Узорковање

#### *Поступак прикупљања STSG-а и конзервирање препарата*

Трансплантат делимичне дебљине коже (STSG) био би узиман са унутрашње стране натколенице инструментом који се назива Хамби нож. Донорна регија графта би била збринута уобичајеном техником, оклузивним завојем по Ален-Кохеру. Ивице трансплантата би биле поравнате маказама, а затим исперфорирани скалпелом. Затим би трансплантат био пласиран на вазелинску газу својом спољашњом страном и пресавијен неколико пута, у зависности од величине. Тако припремљен трансплантат би био стављен у стерилну посуду са поклопцем, у коју би биле убачене и две до три мање газе натопљене стерилним раствором 0.9% NaCl. На посуди би били обележени следећи подаци: име и презиме болесника, датум операције, и име и презиме оператора. Посуда би била стављена у фрижидер, у коме је температура 4°C.

#### *Поступак прикупљања узорака за хистопатолошку анализу*

Исечци конзервираног трансплантата за хистопатолошку анализу, димензије 1 x 1 cm, би били узимани у стерилним условима, у предвиђеним временским периодима: 3, 7, 14, 21 и 28-ог дана од конзервирања. Узорци ткива били би фиксирани у 4% формалину, а затим подвргнути стандардним процедурама за добијање парафинских калупа.

#### *Поступак прикупљања узорака за микробиолошку анализу*

Брисеви са конзервираног трансплантата би били узимани стандардном методом у предвиђеним временским периодима: 3, 7, 14, 21 и 28-ог дана од конзервирања.

#### *Поступак прикупљања крви за одређивање биохемијских параметара*

Крв за одређивање биохемијских параметара оксидационог стреса била би узимана из периферне вене пацијената непосредно пред оперативни захват узимања трансплатата и након 7 дана од операције.

### 2.7.4. Варијабле

#### *Морфолошка и хистолошка анализа ткива*

STSG узорци ће бити класификовани на основу макроскопских и микроскопских карактеристика. Морфолошка испитивања (морфометријске анализе, квантификација

еластичних и колагених влакана) ће се спровести комбинацијом *haematoxylin-eosin* (HE), *Sirius Red* и *Masson's Trichrome* бојења. Хистолошке анализе би обухватиле и одређивање капиларне густине.

#### *Микробиолошке анализе*

Са конзервираних кожных трансплантата узимаће се брисеви који би били допремљени у лабораторију. Брисеви би били засејани на две чврсте хранљиве подлоге: крвни агар који садржи 5% овчје крви и диференцијалну подлогу Ендо агар као и течну подлогу тиогликолатни бујон. Засејане подлоге би биле инкубирани у термостату на 35°C у аеробним условима 18-24 сата. Након тога би било спроведено читавање засејаних подлога. Уколико дође до пораста бактеријских култура радила би се идентификација и испитивање антибиотске осетљивости. Антибиограм би се радио на стандардизованој подлози *Mueller hinton* агар диск дифузионом методом по *Eucast*-у (12). Уколико не дође до пораста бактеријских култура инкубација би била продужена за 24 сата. Тиогликолатна подлога би се у случају пораста бактерија (замућења) пресејала на крвни и Ендо агар. Потом би се радила идентификација и антибиограм. Након завршеног испитивања би се издали извештаји у виду негативног (засејане подлоге су стерилне) или позитивног налаза (име изоловане бактерије са антибиограмом).

Све описане морфолошке и микробиолошке карактеристике STSG-а би се испитивале након 3, 7, 14, 21 и 28-ог дана од конзервирања.

#### *Параметри оксидационог стреса из крви*

У прикупљеним узорцима крви би се одређивала концентрација прооксидативних параметара: супероксид анјон радикала ( $O_2^-$ ), водоник пероксида ( $H_2O_2$ ), индекса липидне пероксидације (TBARS), нитрита ( $NO_2^-$ ), као и активности ензима антиоксидационе заштите: супероксид дисмутазе (SOD) и каталазе (CAT) и ниво редукваног глутатиона (GSH) непосредно пред као и 7. дана након оперативног захвата.

#### **2.7.5. Снага студије и величина узорка**

Прорачун величине узрока је извршен на основу резултата претходно објављене студије у којој је праћен утицај презервације STSG-а на интегритет ткива, пролиферацију и апоптозу ћелија као и васкуларизацију и где је показано да се вијабилност ћелија



значајно смањила за 56% након 3 дана. За прорачун је коришћен двосмерни Т-тест за везани узорак, уз претпоставку алфа грешке од 0.05 и снаге студије 0.8 (бета грешка 0.2) и уз коришћење одговарајућег рачунарског програма. Узимањем у обзир резултата наведене студије, укупан студијски узорак је прорачунат на 80 (по 40 испитаника у групи).

#### **2.7.6. Статистичка обрада података**

За статистичку обраду резултата био би коришћен статистички програм SPSS 18.0 for *Windows*. Пре статистичке обраде података, прво ће се испитати правилност расподеле добијених вредности. Уколико вредности буду имале правилну расподелу биће коришћен параметарски *Student-ov t* тест, док ће се неправилна расподела поредити коришћењем непараметарског *Mann-Whitney* теста. Разлике између група у учесталости појединих категорија биће утврђене *Fisher*-овим тестом стварне вероватноће ако је учесталост мала. Користиће се једнофакторска или двофакторска анализа варијансе.

#### **2.8. Очекивани резултати докторске дисертације**

Кроз испитивање маркера оксидационог стреса утврдиће се да ли постоји корелација оксидационог статуса пацијента са добијеним патохистолошким и микробиолошким променама конзервираног трансплатата коже.

#### **2.9. Оквирни садржај докторске дисертације**

Предложено истраживање може да пружи клинички веома важне, мало познате и неусаглашене податке које се односе на хистолошке, а поготово микробиолошке карактеристике конзервираних STSG препарата. Поред тога, студија треба да покаже до ког временског периода је најпогодније чувати кожне трансплантанте како би се очувала њихова вијабилност и тиме постигао највећи степен успешности пресађивања коже.

### **3. Предлог ментора**

За ментора ове докторске дисертације се предлаже проф. др Дејан Вуловић, ванредни професор Факултета медицинских наука Универзитета у Крагујевцу за ужу научну област Хирургија.

Проф. др Дејан Вуловић поседује стручне и научне компетенције које су комплементарне са предметом истраживања и испуњава услове за ментора докторских дисертација у складу са стандардом 9. за акредитацију студијских програма докторских академских студија на високошколским установама.

### 3.1 Компетентност ментора

Радови проф. др Дејана Вуловића који су у вези са темом докторске дисертације:

1. Andrić K, Kozarski J, Stanković V, Spasić M, Rakić V, **Vulović D**. Large hemangiopericytoma of the shoulder: A case report. *Vojnosanit Pregl*. 2020; doi: 10.2298/VSP200530073A
2. Vulović D, Kozarski J, Petrović D, Gregović M, Jovanović D, **Vulović D**, Radivojčević U. Atypical primary melanoma of the umbilicus case report. *Vojnosanit Pregl*. 2018;75(12):1237-1240.
3. Piščević B, Brdareski Z, Stepić N, **Vulović D**, Jovanović M, Vulović D. The impact of breast augmentation on the skin temperature of the breast. *Vojnosanit Pregl*. 2019;76(5):518-523.
4. Rakić VŠ, Đikanović B, Alempijević Dj, Simić R, Bogdanović S, Janjić Z, **Vulović D**. Development of a scale for evaluating the severity of disfigurements caused by injuries disease or surgery. *Vojnosanit Pregl* 2018;75(4): 381-389
5. **Vulović D**, Kozarski J, Radivojčević U, Stepić N, Milićević S, Petrović NT. Rhinoplasty without nasal packing and splinting. *Vojnosanit Pregl* 2018; 75(4):352-358
6. Janković SM, Milovanović D, Zečević DR, Folić M, Rosić N, **Vulović D**. Consulting clinical pharmacologist about treatment of inpatients in a tertiary hospital in Serbia. *Eur J Clin Pharmacol* 2016;72(12):1541-1543
7. Janicijevic-Petrovic M, Sarenac-Vulovic T, **Vulovic D**, Janicijevic K, Petrovic M, Vujic D. Cataract surgery in patients with ocular pseudoexfoliation. *Ann Ital Chir* 2013; 84: 611-615.
8. Janićijević Petrović M.A, Šarenac T, Srećković S, Janićijević K, Petrović M, **Vulović D**. Klinička procena znakova i simptoma Grejvsove oftalmopatije. *Srp Arh Celok Lek*. 2012;140(11-12):694-698.

#### **4. Научна област дисертације**

Медицина. Изборно подручје: Клиничка и експериментална физиологија са спортском медицином

#### **5. Научна област чланова комисије**

1. Доц. др Слађана Павловић, доцент Факултета медицинских наука Универзитета у Крагујевцу за ужу научну област Микробиологија и имунологија, председник;
2. Доц. др Весна Миличић, доцент Факултета медицинских наука Универзитета у Крагујевцу за ужу научну област Дерматовенерологија, члан;
3. Проф. др Бобан Ђорђевић, редовни професор Медицинског факултета Војномедицинске академије Универзитета одбране у Београду за ужу научну област Пластична и реконструктивна хирургија, члан.

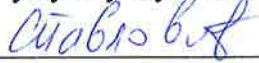
## ЗАКЉУЧАК И ПРЕДЛОГ КОМИСИЈЕ

На основу досадашњег научно-истраживачког рада кандидат, Кристина Андрић, испуњава све услове за одобрење теме и израду докторске дисертације. Предложена тема је научно оправдана и оригинална, дизајн истраживања прецизно постављен и дефинисан, а научна методологија јасна и прецизна.

Комисија предлаже Научно-наставном већу Факултета медицинских наука Универзитета у Крагујевцу да прихвати тему докторске дисертације кандидата Кристина Андрић, под називом „Морфолошке и микробиолошке промене конзервираног хуманог трансплантата коже“ и одобри њену израду.

## ЧЛАНОВИ КОМИСИЈЕ

Доц. др Слађана Павловић, доцент Факултета медицинских наука Универзитета у Крагујевцу за ужу научну област Микробиологија и имунологија, председник



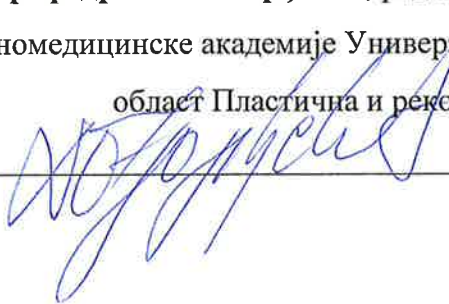
---

Доц. др Весна Миличић, доцент Факултета медицинских наука Универзитета у Крагујевцу за ужу научну област Дерматовенерологија, члан



---

Проф. др Бобан Ђорђевић, редовни професор Медицинског факултета Војномедицинске академије Универзитета одбране у Београду за ужу научну област Пластична и реконструктивна хирургија, члан



---

У Крагујевцу, 11.12.2020. године