

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-03-93/31, од 19.02.2020. године, именовани су чланови комисије за оцену научне заснованости теме докторске дисертације кандидата др Миодрага Јоцића, под називом:

“Колоректални карцином: утицај системских концентрација цитокина и патохистолошких карактеристика на анемију и тромбозу.”

Чланови комисије су:

1. **проф. др Наташа Здравковић**, ванредовни професор Факултета медицинских наука Универзитета у Крагујевцу за ужу научну област интерна медицина, председник
2. **проф. др Светлана Ђукић**, ванредовни професор Медицинског факултета Војномедицинске академије Универзитета одбране, за ужу научну област интерна медицина, члан
3. **проф. др Данило Војводић**, редовни професор Медицинског факултета Војномедицинске академије Универзитета одбране, за ужу научну област имунологија, члан.

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

2. Извештај о оцени научне заснованости теме докторске дисертације

2.1. Кратка биографија кандидата

Др Миодраг Јоцић рођен је 1974. године у Нишу. Основну и средњу школу завршио је са одличним успехом. На Медицинском факултету у Нишу дипломирао је 8. марта 2002. године, са просечном оценом 9,26 (девет и 26/100) у току студија и оценом 10 (десет) на дипломском испиту. Школу резервних официра СнСл завршио је 2003. године са просечном оценом 9,52 (девет и 52/100) као четврти у класи. Од 2003. до 2005. био је управник Гарнизонске амбуланте и Начелник СнСл у Куршумлији, где је оцењен службеном оценом „нарочито се истиче“. Дана 16.12.2008. године положио је специјалистички испит из трансфузиологије оценом 5,00. Ради као лекар специјалиста и начелник одељења у Институту за трансфузиологију и хемобиологију ВМА. Више пута награђиван за свој рад, добитник одликовања 2015. године. Од 2016. у чину потпуковника Војске Србије. Два пута учествовао у мировним операцијама ВС на позицији лекара Рола 1 и главног официра санитетске службе команде ЕУТМ мисије у Сомалији. Оба пута одликован и оцењен највишим оценама. До сада је објавио је укупно 34 научне публикације (први аутор је у 8 радова). Од тога, четири рада се налазе

на SCI листи, међу којима је први аутор рада у међународном часопису (M23): „Jocić M, Trkuljić M, Jovicic D, Borovcanin N, Todorovic M, Balint B. Mirasol PRT System inactivation efficacy evaluated in platelet concentrates by bacteria-contamination model. Vojnosanit Preg 2011, 68 (12): 1041-6“. На трећој је години докторских студија на Факултету медицинских наука Универзитета у Крагујевцу, где је положио је Усмени докторски испит оценом 10 (десет) и тренутно је у фази пријаве докторске тезе. Годину дана је асистент на предмету Трансфузиологија на Медицинском факултету ВМА Универзитета одбране. Одговоран је за организацију КМЕ у Институту за трансфузиологију и хемобиологију. Члан је Тима за трансплантацију солидних органа на ВМА и до сада је учествовао у 23 трансплантације јетре. Аутор је монографије од националног значаја (M42): „Balint B, Todorović M, Jocić M, Stamatović D. Transplantacija ćelija i organa – hemoterapijski aspekti i pristupi. Beograd: Udruženje ART Srbije, 2011“. Носилац је увођења нове технологије под називом: „Употреба аутологних серум капи у лечењу офталмолошких болесника на ВМА“. Учествовао је на више конгреса у земљи и иностранству. Активно чита, пише и говори енглески језик на нивоу трећег степена. Члан је Српског лекарског друштва, удружења АРТ и Удружења трансфузиолога Србије. Ожењен и отац двоје деце.

2.2. Наслов, предмет и хипотеза докторске дисертације

Наслов: Колоректални карцином: утицај системских концентрација цитокина и патохистолошких карактеристика на анемију и тромбозу.

Предмет: Предмет овог истраживања је да се анализирају системске вредности цитокина и имуномодулацијских протеина и клиничко-патохистолошке карактеристике болести, и њихова повезаност са анемијом, односно тромбозом, код болесника са колоректалним карциномом.

Хипотезе: Клиничко – патохистолошке карактеристике прогресивног CRC-а су у позитивној корелацији са присуством анемије и тромбозе. Вредности концентрације туморских маркера (AFP, CEA, CA 19-9) у серуму позитивно корелирају са присуством анемије и тромбозе код оболелих од CRC-а. Системске вредности антиинфламацијских и имуномодулацијских протеина у серуму оболелих од CRC-а су у позитивној корелацији са присуством анемије и тромбозе.

2.3. Испуњеност услова за пријаву теме докторске дисертације

Кандидат је испунио статутарне услове неопходне да би пријавио докторску дисертацију јер је као први аутор објавио рад у целини у часопису категорије M23, који излази на једном од водећих светских језика:

Jocić M, Trkuljić M, Jovičić D, Borovčanin N, Balint B. Mirasol PRT inactivation efficacy evaluated in platelet concentrates by bacteria-contamination model. Vojnosanit Pregl. 2011; 68(12):1041–6. M23

2.4. Преглед стања у подручју истраживања

Колоректални карцином (CRC) је други водећи узрок смрти код оба пола од малигних болести у целом свету. Осим тога, CRC је други најчешћи тумор код жена и трећи код мушкараца. Инциденца CRC-а је у сталном порасту због старења становништва и

нездравог начина живота. Мада је раширеност CRC-а у свету различита, више од две трећине свих случајева и више од половине свих смртних исхода се дешава у високоразвијеним земљама. Амерички институт за истраживање карцинома наводи да висока стопа коришћења црвеног меса и месних прерађевина у исхрани, алкохолних пића и гојазност повећавају, док са друге стране редовна физичка активност смањује ризик за настанак CRC-а. Хематолошки поремећаји код болесника са CRC-ом, попут анемије и тромбозитозе, засебно или удружено, могу бити клинички корисни, јефтини, неинвазивни прогностички маркери, па самим тим и корисни водичи у даљем лечењу ових болесника. Са друге стране, тачна улога појединих цитокина у патогенези анемије и тромбозитозе код болесника са колоректалним карциномом није још увек потпуно разјашњена. Боље познавање ових механизма може у будућности бити од користи за болеснике са солидним туморима, на пример, осмишљавањем циљане терапије којом би била прекинута патолошка интеракција између туморских и крвних ћелија.

2.5. Значај и циљ истраживања

Значај студије

Ово истраживање би требало да по први пут испита да ли и на који начин корелирају системске концентрације цитокина у серуму и клиничко-патохистолошке карактеристике болести са појавом анемије, односно тромбозитозе код болесника са колоректалним карциномом.

Циљ студије

Основни циљ истраживања је да се анализирају системске вредности цитокина и имуномодулацијских протеина (IL-1, IL-4, IL-10, IL-17, IL-33, галектина-1, галектина-3, TNF- α и INF- γ) и клиничко-патохистолошке карактеристике болести, и њихова повезаност са анемијом, односно тромбозитозом, код болесника са колоректалним карциномом.

У складу са основним циљем поставили дефинисани су конкретни задаци:

У експерименталним и контролним групама корелирати:

- 1) клиничко-патохистолошке карактеристике (нуклеарни и хистолошки градус, степен инвазије лимфних и крвних судова, TNM стадијум болести, број детектованих метастаза у плућима, јетри или перитонеуму),
- 2) концентрације туморских маркера (AFP, СЕА, СА 19-9) и
- 3) системске вредности цитокина и имуномодулацијских протеина (IL-1, IL-4, IL-10, IL-17, IL-33, галектина-1, галектина-3, TNF- α и INF- γ) са присуством или одсуством анемије и тромбозитозе.

2.6. Веза истраживања са досадашњим истраживањима

Колоректални карцином (CRC) је велики здравствени проблем. Анемија је честа код пацијената са CRC-ом и може бити један од најчешћих екстраинтестиналних знакова болести (30%–75% од свих пацијената). Анемија се чешће јавља код пацијената са CRC-ом локализованим у проксималном делу колоне. У више студија су приказани резултати о повезаности анемије, било да се ради о микроцитној или нормоцитној

анемији, са лошијим исходом болести, и краћим специфичним туморским преживљавањем (енгл. Cancer Specific Survival, CSS), како због постојања системске инфламације тако и због лошије исхрањености ткива. Анемија код пацијената са CRC-ом је најчешће узрокована хроничним крварењем из тумора, било да се ради о окултном крварењу из тумора проксималног колона или о видљививом крварењу у столици из тумора дисталног колона или ректума. Међутим, анемија такође може бити последица системског инфламацијског одговора на тумор са повећањем концентрација инфламацијских цитокина попут фактора некрозе тумора алфа (TNF- α), интерферона гама (IFN- γ) и интерлеукина (IL-1, 6, 8 и 10), који подстичу развој анемије. Ови медијатори инфламације узрокују настанак анемије различитим патофизиолошким механизмима: 1. стимулацијом продукције хепцидина у јетри, који инхибира апсорпцију гвожђа у дванаестопалачном цреву; 2. стимулацијом складиштења и задржавања гвожђа у макрофагима (TNF- α , IL-1, IL-6, IL-10) са последичном ограниченом доступношћу гвожђа за ћелије црвене крвне лозе; 3. активацијом макрофага и интензивнијом фагоцитозом еритроцита у јетри и слезини; 4. директном инхибицијом пролиферације и диференцијације прогениторских ћелија еритроцитне лозе (IFN- γ , IL-1, TNF- α , α -1-антитрипсин) и 5. недовољном синтезом еритропоетина у бубрезима. Карциноми су често повезани са секундарном тромбоцитозом. Тромбоцитоза, као паранеопластични синдром, виђа се код 10–57% оболелих од малигнух болести и удружена је са појачаним метастатским ширењем и растом тумора. Између туморских ћелија и тромбоцита постоје реципрочне интеракције, које се огледају у узајамној повезаности раста тумора и метастазирања са једне стране, и повећања броја тромбоцита и њихове активације са друге стране. Познати су специфични молекулски механизми у којима малигне ћелије продукују цитокине, који стимулишу развој тромбоцитозе, док истовремено директним или индиректним механизмима активирају тромбоците. Повећан број активираних тромбоцита, затим олакшава раст туморских ћелија, метастазирање, ангиогенезу и омогућава туморским ћелијама заштиту од дејства NK ћелија током интраваскуларне фазе ширења. Све наведено додатно активира тромбоците и стимулише настанак тромбоцитозе. Многобројни протеини у крви повезани са биологијом тумора доприносе настанку тромбоцитозе. Међу њима се најчешће наводе тромбопоетин, IL-1, IL-3, IL-6, IL-11, инхибиторни фактор леукемије, KitL и онкостатин М. Неколико недавних студија објављује резултате, који показују да тромбоцитоза може бити повезана са лошијом прогнозом код болесника са CRC-ом. Такође, тромбоцитоза је повезана са краћим општим, као и карцином-специфичним преживљавањем код ових болесника.

2.7. Методе истраживања

Анализираће се: лабораторијске анализе, крвна слика, активност болести, ендоскопски налаз, патохистолошки налаз, хистолошки и нуклеарни градус тумора, радиолошки налаз, компликације, екстраинтестиналне манифестације, ултразвучни преглед стомака, радиолошки преглед срца и плућа, компјутеризована томографија, TNM класификација тумора, вредност туморских маркера (AFP, CEA и CA19-9) у серуму болесника са CRC, концентрације цитокина и имуномодулацијских протеина (IL-1, IL-4, IL-10, IL-17, IL-33, галектина-1, галектина-3, TNF- α и INF- γ) у серуму болесника.

2.7.1. Врста студије

Планирана је компаративна-експериментална студија пресека, током које ће се анализирати системске вредности цитокина, серумске вредности туморских маркера и клиничко-патохистолошке карактеристике болести код оболелих од CRC-а и присуством анемије и тромбоцитозе (експерименталне групе), док би контролне групе били болесници са колоректалним карциномом без присутне анемије, односно без присутне тромбоцитозе. Истраживање ће бити спроведено у Центру за гастроентерологију, Клиничког центра у Крагујевцу и Центру за молекулску медицину и истраживања матичних ћелија Факултета медицинских наука Универзитета у Крагујевцу.

2.7.2. Популација која се истражује

Оболели од CRC-а ће бити подељени у: експерименталну групу са присутном анемијом, односно експерименталну групу са присутном тромбоцитозом и контролну групу без присутне анемије, односно контролну групу без присутне тромбоцитозе. Истраживање је одобрио надлежни етички комитет.

2.7.3. Узорковање

У студију ће бити укључени испитаници са колоректалним карциномом који имају:

1. дијагностикован колоректални карцином верификован колоноскопским прегледом и потврђен патохистолошки,
2. потписан добровољни пристанак за учешће у студији,
3. старосне доби изнад 18 година.

Из студије ће бити искључени испитаници са:

1. рецидивантним туморима дебелог црева;
2. колоректалним карциномом код којих је спроведена зрачна и хемиотерапија;
3. оболели од других малигних болести или нејасном дијагнозом болести;
4. неодговарајућом медицинском документацијом;
5. оболели од акутних инфекција;
6. оперисани у протекла четири месеца;
7. пацијенти којима су трансплантирани органи;
8. болесници са знацима активног крварења.

Студијске процедуре

У студију ће бити укључени болесници којима је током колоноскопског прегледа дијагностикован колоректални карцином, што ће бити потврђено биопсијом *ex tempore*. Колоноскопски прегледи ће се обављати у Центру за гастроентерохепатологију, Интерне клинике, Клиничког центра Крагујевац.

Свим болесницима ће бити урађене лабораторијске анализе (одређивање комплетне крвне слике и биохемијских анализа), туморски маркери (CEA, CA 19-9 и AFP), системске вредности цитокина и имуномодулацијских протеина (IL-1, IL-4, IL-10, IL-17, IL-33, галектина-1, галектина-3, TNF- α и INF- γ) у серуму.

Одређивање клиничко-патохистолошке тежине болести

Свим испитаницима оболелим од CRC-а ће бити урађен ултразвучни преглед стомака, радиографски преглед плућа и срца, компјутеризована томографија стомака и мале карлице (код ректалне и дисталне локализације тумора). Ултразвучни прегледи стомака ће бити рађени у Центру за гастроентерохепатологију. Радиографски прегледи и компјутеризована томографија стомака и мале карлице ће бити рађена у Служби за радиолошку дијагностику по стандардним протоколима. Након извршених прегледа, испитаници ће бити сврстани у групу са дијагностикованом метастатском болешћу јетре и плућа и групу испитаника без дијагностикованих метастаза у јетри и плућима. Свим испитаницима код којих буде верификована слободна течност у трбуху, биће узет пунктат који ће бити послат у Службу за патологију за потврду присуства малигну хелија у пунктату односно карциноматозе. Потом ће испитаници бити сврстани у две групе: са карциноматозом перитонеума и без карциноматозе перитонеума. Класификација тумора ће бити учињена према критеријумима UICC (енгл. The Union for International Cancer Control)- TNM, а градирање према класификацији Светске здравствене организације. У току колоноскопије ће бити узимани ткивни исечци на местима измењене слузнице колоне. Ови исечци ткива ће бити коришћени за патохистолошку анализу (од сваког испитаника ће бити узето по 5 исечака ткива, величине 4-5 mm).

Патохистолошка анализа ткивних исечака

Ткивни исечци за патохистолошку анализу ће бити анализирани у Служби за патологију. Исечци ткива ће бити фиксирани у пуферисаном 4% формалину, 18-24 сата, дехидрисани у алкохолу и калупљени у парафин. Парафински блокови ткива ће бити серијски сечени на пресеке дебљине 5–7 μ m. Затим, ће се ткивни пресеци бојити хематоксилин-еозином по Heidenhain-у и сагласно препорукама Gurr-а. Овако припремљени ткивни исечци ће бити анализирани светлосном микроскопијом (увеличање 10x и 40x). Биће одређени хистолошки (HG) и нуклеарни градуси (NG). Хистолошки градус тумора означава степен диференцијације и број митоза туморских ћелија и у складу је са агресивношћу тумора. Хистолошки градус тумора представља важан прогностички параметар код колоректалног карцинома. Препоручује се двоструки систем градирања тумора: тумор ниског градуса (добро диферентовани и умерено диферентовани) и високог градуса (слабо диферентовани и недиферентовани). Према светској здравственој организацији разликује се добро, умерено, слабо диферентовани и недиферентовани тумор. Нуклеарни градус је такође параметар који указује на степен малигности, а заснива се на одређивању морфолошке измењености једра малигне ћелије у односу на непромењену, здраву ћелију. Дефинише се као низак (NGI), средњи (NGII) и висок (NGIII). У овој студији испитаници са колоректалним карциномом у односу на хистолошки градус ће бити сврстани у две групе: 1) градус I, добро диферентован и 2) градус II, умерено диферентован + градус III, лоше диферентован, а у односу на нуклеарни градус у три групе: низак (I), средњи (II) и висок (III).

Сви карциноми ће такође, бити подељени на две групе: са детектованом и без детектоване инвазије лимфних, односно крвних судова.

Одређивање серумских концентрација туморских маркера AFP, CEA и СА 19-9

За одређивање концентрације туморских маркера AFP, CEA и СА 19-9 у серуму, свим испитаницима венепункцијом ће бити узето по 5 ml крви. Узорци ће бити центрифугирани на 3000 обртаја 20 минута. Серумске концентрације CRP (енгл. С-reactive protein) ће бити одређиване турбидиметријском методом, док ће серумске

концентрације туморских маркера AFP (енгл. Alpha phetoprotein), CEA (енгл. Carcinoembryonic antigen) и CA 19-9 (енгл. Carbohydrate antigen) бити одређиване методом хемилуминисценције, у централној лабораторији Клиничког центра Крагујевац.

Мерење вредности цитокина и галектина у серуму

За одређивање концентрације цитокина, свим испитаницима венепункцијом узимаће се по 10 ml крви пре било какве терапије. Затим ће се центрифугирањем издвајати серум од крвног коагулума. Сви узорци серума чуваће се на -20°C до тестирања. Концентрације цитокина у серуму (IL-1, IL-4, IL-10, IL-17, IL-33, галектина-1, галектина-3, TNF- α и INF- γ) ће бити мерене коришћењем сензитивних ELISA (енгл. Enzyme-Linked Immunosorbent Assay) тестова (R&D Systems, Minneapolis, MN), специфичних за цитокине човека. Метода ће се спровести према упутствима произвођача. Стандарди ће пре употребе бити растворени у PBS-у (pH 7.2), тако да почетне концентрације буду према упутству произвођача. 100 μ l радне концентрације везујућег антитела (енгл. Capture Antibody) биће сипано у бунарчиће полистиренских микротитар плоча (енгл. Microtiter Plate, MTP) са 96 бунарчића. МТР ће бити прелепљене адхезивном фолијом и остављене преко ноћи на собној температури, након чега ће бунарчићи бити испрани пуфером за испирање (енгл. Wash Buffer) у аутоматској машини за испирање МТР-а. У све бунарчиће ће затим бити додат блокирајући пуфер (енгл. Block Buffer, 1% BSA у PBS-у) финалног волумена 300 μ l и МТР ће бити остављене минимум један сат на собној температури, а потом испране пуфером за испирање. Сви узорци ће бити претходно разблажени у дејонизованој води, према упутству произвођача. Разблажени узорци и припремљени стандарди цитокина ће бити насути у МТР, прекривени адхезивном фолијом и остављени два сата на собној температури. Након инкубације и испирања МТР, у све бунарчиће ће бити додато 100 μ l радне концентрације детекционог антитела, а плоче ће бити обложене адхезивном фолијом и поново остављене два сата на собној температури. Плоче ће затим бити испране, а у бунарчиће ће бити сипано 100 μ l радне концентрације Streptavidin-HRP (енгл. Streptavidin Horseradish Peroxidase). Инкубација на собној температури и без директног излагања светлости ће бити прекинута након 20 минута испирањем МТР-а. У бунарчиће ће бити сипано 100 μ l раствора супстрата (енгл. Substrate Solution: Colorreagent A+Colorreagent B, 1:1). Двадесет минута касније, ће бити додато 50 μ l стоп раствора (енгл. Stop Solution: 2 NH₂SO₄) и апсорбанца ће бити мерена одмах у сваком бунарчету, помоћу Micro plate reader-а (Zenyth, Anthos, UK) подешеног на 450nm. Све измерене вредности ће бити умањене за вредности апсорбанце слепе пробе (дејонизована вода). Концентрације цитокина ће бити одређена за сваки појединачан узорак упоређивањем са стандардном кривом направљеном од серије предходно познатих концентрација цитокина, а према упутству произвођача. Вредност мерених цитокина ће бити приказана као pg/ml серума. Сви узорци ће бити мерени у дупликату. Све процедуре током студије ће бити урађене у складу са Принципима добре клиничке праксе и Декларације из Хелсинкија.

Одређивање комплетне крвне слике и биохемијских анализа

Одређивање комплетне крвне слике (ККС) и биохемијских анализа ће бити урађено у Централној биохемијској лабораторији КЦ Крагујевац стандардним методама. ККС ће бити одређивана на апарату Beckman Coulter AcT diff Analyzer и то: број леукоцита, еритроцита, тромбоцита (мерењем промене у електричном отпору када партикула-ћелија у проводној течности пролази кроз мали отвор, изражавани у броју x10⁹/L,

x10¹²/L), хемоглобин ће бити одређен колориметријски и изражен у g/L. На основу вредности хемоглобина болесници са CRC ће бити подељени у групу са присутном анемијом (према критеријумима WHO за мушкарце: вредности хемоглобина, Hgb < 130 g/L, односно за жене: вредности хемоглобина, Hgb < 120 g/L) и у групу без анемије (према критеријумима WHO за мушкарце: вредности хемоглобина, Hgb ≥ 130 g/L, односно за жене: вредности хемоглобина, Hgb ≥ 120 g/L). На основу броја тромбоцита болесници са CRC ће бити подељени у групу са присутном тромбоцитозом (број тромбоцита већи или једнак 450 x10⁹/L) и групу без тромбоцитозе (број тромбоцита мањи од 450 x10⁹/L).

2.7.4. Варијабле које се мере у студији

Као *независне варијабле* пратиће се: колоректални карцином, анемија, тромбоцитоза. Као *зависне варијабле* пратиће се: лабораторијске анализе, активност болести, ендоскопски налаз, патохистолошки налаз, хистолошки и нуклеарни градус тумора, радиолошки налаз, компликације, екстраинтестиналне манифестације, ултразвучни преглед стомака, радиолошки преглед срца и плућа, компјутеризована томографија, TNM класификација тумора, вредност туморских маркера (AFP, CEA и CA19-9) у серуму болесника са CRC, концентрације цитокина и имуномодулативних протеина (IL-1, IL-4, IL-10, IL-17, IL-33, галектина-1, галектина-3, TNF-α и INF-γ) у серуму болесника.

Збуњујуће варијабле: старост и клиничке карактеристике испитаника, удружене болести (дијабетес, повишен крвни притисак...), лекови које узимају пацијенти, навике пацијената (пушач, конзумирање алкохола, кафе, кокаина и слично)

2.7.5. Снага студије и величина узорка

Величина узорка је израчуната на основу података о вредностима серумске концентрације про-инфламацијског цитокина TNF-α, публикованих у студији сличног дизајна. Студијски узорак је израчунат узимајући α као 0.05 и снагу студије од 0.8 за Student's t тест (два независна узорка), поредећи групе међу собом (у оба смера), према статистичком програму G*Power3. С обзиром да је за вредности серумске концентрације TNF-α нађена најмања разлика између група пацијената са различитим хистолошким стадијумом болести, ова вредност је коришћена за израчунавање величине узорка. Разлика у вредностима серумске концентрације TNF-α међу групама износила је 35,07 pg/ml, а стандардна девијација 20,14 и утврђени број узорака према групама износи 15 за сваку од група, али користимо по 25 узорака у свакој групи.

2.7.6. Статистичка анализа

Подаци ће се анализирати коришћењем статистичког програма SPSS верзија 20. Пре статистичке обраде података, прво ће се испитати правилност расподеле добијених вредности (величина узорка одређује који ћемо тест користити за ту проверу). За поређење средњих вредности променљиве двеју популација користеће се параметарски Student's t тест, уколико вредности буду имале правилну расподелу, док ће се неправилна расподела поредити коришћењем непараметарског Mann-Whitney теста. У циљу процене могуће корелације између маркера од интереса и присуства анемије, односно тромбоцитозе код болесника са колоректалним карциномом, где је то

прикладно, биће корићена Pearson's и Spearman's корелација. Изражајност корелације биће дефинисана као слаба (0,1 до 0,3), умерена (0,3 до 0,5) или јака (0,5 до 1,0), позитивна или негативна. Резултати експеримента ће се изражавати као вредност \pm стандардна грешка (SE). Статистички значајна разлика у добијеним вредностима између група износи $p < 0,05$, док је статистички веома значајна разлика када је $p < 0,01$.

2.8. Очекивани резултати докторске дисертације

Очекује се да болесници са колоректалним карциномом и присутном анемијом, односно присутном тромбоцитозом (експерименталне групе) имају тежи клиничко-патохистолошки облик болести (виши нуклеарни и хистолошки градус тумора, већи степен инвазије лимфних и крвних судова, виши TNM стадијум болести, учесталије метастазе у плућима, јетри или перитонеуму), у поређењу са болесницима са колоректалним карциномом без присутне анемије, односно без присутне тромбоцитозе (контролне групе). Такође се очекује, позитивна корелација анемије, односно тромбоцитозе и системских вредности антиинфламацијских цитокина и имуномодулаторних протеина и туморских маркера (AFP, CEA, CA 19-9) у серуму болесника са колоректалним карциномом.

Ово истраживање би требало да по први пут испита да ли и на који начин корелирају системске вредности испитиваних цитокина и галектина са хематолошким поремећајима, анемијом и тромбоцитозом, код болесника са колоректалним карциномом. Откриће нам да ли су неки од испитиваних маркера корисни показатељи прогресије болести код CRC-а.

2.9. Оквирни садржај дисертације

Улога и утицај појединих цитокина и имуномодуларних протеина и клиничко-патохистолошких карактеристика болести код оболелих од колоректалног карцинома и њихова повезаност са хематолошким поремећајима, попут анемије и тромбоцитозе није потпуно разјашњена. Зато ће основни задатак овог истраживања бити да се анализирају концентрације туморских маркера (AFP, CEA, CA 19-9), системске вредности цитокина и имуномодулацијских протеина (IL-1, IL-4, IL-10, IL-17, IL-33, галектина-1, галектина-3, TNF- α и INF- γ) и клиничко-патохистолошке карактеристике болести (нуклеарни и хистолошки градус, степен инвазије лимфних и крвних судова, TNM стадијум болести, број детектованих метастаза у плућима, јетри или перитонеуму) и одреди њихова повезаност са анемијом, односно тромбоцитозом, код болесника са колоректалним карциномом.

3. Предлог ментора

За коменторе се предлажу:

доц. др Милан Јовановић, доцент за ужу научну област Хирургија Медицинског факултета Војномедицинске академије Универзитета одбране у Београду и

доц. др Марина Јовановић, доцент за ужу научну област Интерна медицина Факултета медицинских наука Универзитета у Крагујевцу.

Предложени наставници испуњавају услове за ментора докторских дисертација, у складу са стандардом 9. за акредитацију студијских програма докторских академских студија на високошколским установама.

3.1. Компетентност коментора

Радови у вези са темом докторске дисертације:

Доц. др Милан Јовановић

1. **Јовановић М**, Gajović N, Zdravković N, Jovanović M, Jurišević M, Vojvodić D, Marić V, Arsenijević A, Jovanović I. Fecal Galectin-3: A New Promising Biomarker for Severity and Progression of Colorectal Carcinoma. *Mediators Inflamm.* 2018; 2018:8031328. doi: 10.1155/2018/8031328.
2. **Јовановић М**, Gajović N, Zdravković N, Jovanović M, Jurišević M, Vojvodić D, Mirković D, Milev B, Marić V, Arsenijević N. Fecal galectin-1 as a potential marker for colorectal cancer and disease severity. *Vojnosanit Pregl.* 2019; 76(10): 1037–44.
3. Trifunović B, Delić J, Mirković D, **Јовановић М**, Kršić J, Zarić Z. Colorectal anastomosis dehiscence following radical surgical operation for rectal carcinoma. *Vojnosanit Pregl.* 2011; 68(10): 856-60.
4. Pavlovic M, Jurisevic M, Gajovic N, Mitrovic S, **Јовановић М**, Radosavljevic G, Pantic J, Radovanovic D, Arsenijevic N, Jovanovic I. IL-32 expression associates with lymph vessel invasion in intestinal type of gastric cancer. *Vojnosanit Pregl.* 2018; doi: 10.2298/VSP180727158P.
5. Jurisevic M, Jagic N, Gajovic N, Arsenijevic A, **Јовановић М**, Milovanovic M, Pantic J, Jovanovic I, Sabo T, Radosavljevic G, Arsenijevic N. O,O'-diethyl- (S,S)-ethylenediamine-N,N'-di-2-(3-cyclohexyl)propanoate dihydrochloride enhances influx of effective NK and NKT cells in murine breast cancer. *Vojnosanit Pregl.* 2018; doi: 10.2298/VSP180723149J

Доц. др Марина Јовановић

1. **Јовановић М**, Simovic Markovic B, Gajovic N, Jurisevic M, Djukic A, Jovanovic I, Arsenijevic N, Lukic A, Zdravkovic N. Metabolic syndrome attenuates ulcerative colitis: Correlation with interleukin-10 and galectin-3 expression. *World J Gastroenterol.* 2019;25(43):6465-6482.
2. Acovic A, Simovic Markovic B, Gazdic M, Arsenijevic A, Jovicic N, Gajovic N, **Јовановић М**, Zdravkovic N, Kanjevac T, Harrell CR, Fellabaum C, Dolicanin Z, Djonov V, Arsenijevic N, Lukic ML, Volarevic V. Indoleamine 2,3-dioxygenase-dependent expansion of T-regulatory cells maintains mucosal healing in ulcerative colitis. *Therap Adv Gastroenterol.* 2018; 11: 1756284818793558. doi: 10.1177/1756284818793558
3. Zdravković N, Pavlović M, Radosavljević G, **Јовановић М**, Arsenijević A, Zdravković N, Marić V, Lončarević S, Srzentić Z, Jovanović I. Serum levels of immunosuppressive cytokines and tumor markers in metastatic colorectal carcinoma. *JBUON* 2017; 22(5): 1-8
4. Simovic Markovic B, Jovanovic I, Volarevic V, Zdravkovic N, **Јовановић М**, Zdravkovic N, Maric V, Arsenijevic N and Lukic ML. Potential inversely immunomodulatory roles of Galectin-1 and Galectin-3 in ulcerative colitis. *Wulfenia journal.* 2016; 29: 188-205

5. Jocić M, Gajović N, Jurisević M, **Jovanović M**, Zdravković N, Arsenijević N, Vuković Dejanović V, Marić V, Milev B, Jovanović M. Colorectal carcinoma: evaluation of systemic values of IL-1 and IL-33 in patients with and without thrombocytosis. *Vojnosanit Pregl.* 2019; doi: 10.2298/VSP190910110J.

4. Научна област дисертације

Медицина. Ужа област: Експериментална и клиничка интерна медицина

5. Научна област чланова комисије

1. **проф. др Наташа Здравковић**, ванредовни професор Факултета медицинских наука Универзитета у Крагујевцу за ужу научну област интерна медицина, председник
2. **проф. др Светлана Ђукић**, ванредовни професор Факултета медицинских наука Универзитета у Крагујевцу за ужу научну област интерна медицина, члан
3. **проф. др Данило Војводић**, редовни професор Медицинског факултета Војномедицинске академије Универзитета одбране, за ужу научну област имунологија, члан.

ЗАКЉУЧАК И ПРЕДЛОГ КОМИСИЈЕ

На основу увида у резултате досадашње научно-истраживачке активности и публиковане радове др Миодрага Јоцића, Комисија закључује да кандидат испуњава све услове да приступи изради докторске дисертације.

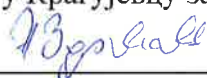
Предложена тема је научно оправдана, дизајн истраживања је прецизно постављен и дефинисан, методологија је јасна. Ради се о оригиналном научном делу које има за циљ да испита корелацију између клиничко-патохистолошких карактеристика колоректалног карцинома, вредности концентрација туморских маркера (AFP, CEA, CA 19-9) и системских вредности цитокина и имуномодулацијских протеина (IL-1, IL-4, IL-10, IL-17, IL-33, галектина-1, галектина-3, TNF- α и INF- γ) у серуму, са присуством анемије и тромбоцитозе код оболелих од CRC-а.

Комисија сматра да ће предложена докторска теза др Миодрага Јоцића бити од великог научног и практичног значаја у смислу испитивања постојања позитивне корелације између клиничко-патохистолошких карактеристика прогресивног облика CRC-а, вредности концентрације туморских маркера и системских вредности цитокина и имуномодулацијских протеина у серуму оболелих од CRC-а са присуством анемије и тромбоцитозе, а ради свеобухватније и боље процене тока и прогнозе болести.

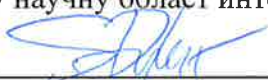
Комисија предлаже Наставно-научном већу Факултета медицинских наука у Крагујевцу да прихвати пријаву теме докторске дисертације кандидата др Миодрага Јоцића **“Колоректални карцином: утицај системских концентрација цитокина и патохистолошких карактеристика на анемију и тромбоцитозу”** и одобри њену израду.

ЧЛАНОВИ КОМИСИЈЕ:

проф. др Наташа Здравковић, ванредовни професор Факултета медицинских наука
Универзитета у Крагујевцу за ужу научну област интерна медицина, председник



проф. др Светлана Ђукић, ванредовни професор Факултета медицинских наука
Универзитета у Крагујевцу за ужу научну област интерна медицина, члан



проф. др Данило Војводић, редовни професор Медицинског факултета
Војномедицинске академије Универзитета одбране, за ужу научну област имунологија,

члан



У Крагујевцу, 11.03.2020.

