

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-03-1044/41, од 02.11.2016. године, именовани су чланови комисије за оцену научне заснованости теме докторске дисертације кандидата **др Ане Девећ**, под називом:

**„НИВОИ ЦИТОКИНА ПРЕ И ПОСЛЕ ХИСТЕРОСКОПСКЕ ПОЛИПЕКТОМИЈЕ
КОД ИНФЕРТИЛНИХ ПАЦИЈЕНТКИЊА”**

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

1. **Проф. др Миодраг Лукић**, редовни професор – емеритус Факултета медицинских наука Универзитета у Крагујевцу за ужу научну област Микробиологија и имунологија, председник;
2. **Проф. др Младенко Васиљевић**, редовни професор Медицинског факултета у Београду, за ужу научну област Гинекологија и акушерство, члан;
3. **Проф. др Зоран Протрка**, ванредни професор Факултета медицинских наука Универзитета у Крагујевцу за ужу научну област Гинекологија и акушерство, члан;

На основу увида у приложену документацију, Комисија подноси Наставно-научном већу следећи:

2. Извештај комисије о оцени научне заснованости теме докторске дисертације

Кандидат **др Ана Девећ**, испуњава све формалне услове предвиђене Законом о високом образовању, Статутом Универзитета у Крагујевцу и Статутом Факултета медицинских наука у Крагујевцу за пријаву теме докторске дисертације.

2.1. Кратка биографија кандидата

Др Ана Девећ, специјалиста гинекологије и акушерства, рођена 05.04.1974. године у Београду. Завршила Осму београдску гимназију. Медицински факултет завршила у Београду 2000. године и стекла звање доктора медицине. Обавезан лекарски стаж обавила у ДЗ Стари град у Београду 2000/01. године. Од 2001. године запослена у КБЦ Земун у Болници за гинекологију и акушерство. Специјалистички испит из гинекологије и акушерства положила са одличном оценом 2006. године у Београду. Завршила више

едукација из специјалистичке области: Југословенску школу за патологију цервикса, вагине, вулве и колпоскопију 2005. године, Школу ултразвука из области гинекологије и акушерства 2005. године, обуку из цитологије 2006 године. Завршила школу из лапароскопије у гинеколошкој онкологији „проф. Давид Гал“ и обуку из хистероскопије у Институту за гинекологију и акушерство КЦ Србије 2008. године. Учесник више стручних скупова, домаћих и међународних конгреса.

Последипломске студије уписала на Медицинском факултету у Крагујевцу у току школске 2008/09 године, смер Хумана репродукција и развој. Усмени докторантски испит положила 2012. године са највишом оценом (10).

2.2. Наслов, предмет и хипотеза докторске дисертације

Наслов: „Нивои цитокина пре и после хистероскопске полипектомије код инфертилних пацијенткиња”

Предмет: Испитивање промена у нивоима цитокина у ткиву ендометријума, испирку утеруса и венској крви код инфертилних пацијенткиња са ендометријалним полипом пре и након оперативног захвата.

Хипотезе:

Основна хипотеза овог истраживачког рада је да постоји повезаност између нивоа цитокина мерених у крви инфертилних пацијенткиња са дијагностикованим ендометријалним полипом, и нивоа ткивних цитокина одређиваних у испирку утеруса, добијених током саме хируршке интервенције - хистероскопске полипектомије.

Такође, постоји повезаност нивоа цитокина из крви и из испирка утеруса пацијенткиња из експерименталне групе, са имунохистохемијским налазом добијеним након обраде самог полипа и околног ендометријума.

Код пацијенткиња из контролне групе постоји међусобна повезаност у нивоима цитокина: из венске крви, из испирка утеруса и из ткива ендометријума.

Такође, мерењем нивоа истих цитокина: из венске крви, из испирка утеруса и из ткива ендометријума, код пацијенткиња из контролне групе, потребно је доказати постојање статистичке разлике у односу на експерименталну групу инфертилних пацијенткиња.

Хипотеза је и да постоји разлика у нивоима испитиваних цитокина у серуму пацијенткиња експерименталне групе пре и месец дана после хистероскопске полипектомије.

Уколико се ове хипотезе потврде, резултат овог истраживања би био одређивање нивоа ових цитокина мање инвазивним методама.

Следствено томе, исход би био брже и јефтиније клиничко и лабораторијско испитивање пацијенткиња код којих је ендометријални полип узрок инфертилитета.

Евентуално, могли би се направити једноставни неинвазивни тестови, којима би пацијенткиње, само преко крви, одређивале нивое цитокина, у циљу лечења инфертилитета.

1. Постоји повезаност између нивоа цитокина: гликоделина (PP14), INF- γ , TNF- α мерених у крви инфертилних пацијенткиња са дијагностикованим ендометријалним полипом са нивоима истих цитокина одређиваних у испирку утеруса током саме хируршке интервенције хистероскопске полипектомије.
2. Постоји повезаност између нивоа цитокина: гликоделина (PP14), INF- γ , TNF- α мерених у крви инфертилних пацијенткиња са дијагностикованим ендометријалним полипом са нивоима цитокина одређиваних у испирку утеруса током саме хируршке интервенције, а такође и повезаност са ткивном концентрацијом истих цитокина одређиваних имунохистохемијским методама добијеним након испитивања самог полипа и околног ендометријума.
3. Мерењем нивоа истих цитокина у венској крви, испирку утеруса и ткиву ендометријума код пацијенткиња из контролне групе доказати постојање статистичке разлике у односу на испитивану групу инфертилних пацијенткиња са ендометријалним полипом као узроком инфертилитета.

2.3. Испуњеност услова за пријаву теме докторске дисертације

Кандидату је објавио рад *in extenso* у часопису категорије M52:

Devic A, Vasiljevic M, Devic A. Endometrial Intraepithelial Neoplasia (EIN) in an Endometrial Polyp, Serbian Journal of Experimental and Clinical Research. 2015; 16(4): 343-346.

Devic A, Vasiljevic M, Devic A, Sorak M. Ovarian Dysgerminoma. Serbian Journal of Experimental and Clinical Research. 2016; 17(1): 67-70.

2.4. Преглед стања у подручју истраживања

Неплодност је проблем који широм света погађа око 80 милиона парова. Сматра се да је око 15 % опште популације погођено овим проблемом. Ендометријални полипи настају када ендометријум хипертрофише услед стимулације естрогеном. Једно поље или више њих на ендометријуму може се развијати испод површине или хипертрофисати према површини у виду тумора са петелком, који се налази у кавуму утеруса и назива се ендометријални полип. Величина полипа је различита, промера од 2 mm до 3 cm и више. Присуство ендометријалног полипа у кавуму утеруса се клинички манифестује обилнијим менструацијама, понекад је присутно интерменструално крварење, често постоји инфертилитет због отежане концепције или учесталих раних побачаја, а уколико су мањих

димезија, могу бити асимптоматски. Дијагноза се поставља на основу хистероскопског, сонографског или хистеросонографског налаза.

Терапија полипа је хируршка, где је неопходно одстрањивање полипа и патохистолошка дијагностика. Златни стандард за полипектомије ендометријума и уопште дијагностички преглед код инфертилних пацијенткиња је путем хистероскопије. Хистероскопија је минимално инвазивна ендоскопска хируршка техника која омогућава дијагностику патолошких стања материчне шупљине, ушћа јајовода, цервикалног канала и лечење готово свих промена које погађају наведене делове материце.

Ендометријум је веома динамично ткиво у коме се дешавају цикличне промене не само у хистолошком смислу већ и у смислу продукције великог броја молекуларних медијатора укључујући адхезионе молекуле, цитокине, факторе раста, липиде итд.

Гликоделин (или плацентни протеин 14) је гликопротеин који се налази у glandularном и површинском епителу ендометријума и у највећој концентрацији се продукује током секреторне фазе ендометријалног циклуса. Један је од битних фактора у олакшавању имплантације, и налази се у повишеним концентрацијама у испирку утеруса добијеном у време имплантације. Уколико се одигра концепција, нивои гликоделина остају повишени. Има имуносупресивно дејство и вероватно има протективну улогу у очувању ембриона од НК ћелијске деструкције. Такође нађено је да у одређеној концентрацији, инхибира везивање сперматозоида за зону пелуциду овуума. Недавно је доказано да има улогу у ангиогенези, те се налази у повишеним концентрацијама у ткиву и бенигнух и малигнух гинеколошких тумора.

TNF- α , *cachexin* или *cachectin*, је цитокин који учествује у системској инфламацији. Активност му је проинфламаторна и антитуморска. Може да потакне смрт ћелије. Регулише пролиферацију и диференцијацију ћелија имунског система. TNF- α инхибише синтезу прогестерона и естрогених хормона у гранулозним и трофобласним ћелијама. Инхибише раст трофобласних и ембрионалних ћелија. Концентрације TNF- α су значајно веће након полипектомије, лучење достиже врхунац у секреторној фази. Повећана експресија може довести до неуспеха имплантације абортуса и ендометриозе.

INF- γ има мало сличности са осталим интерферонима, продукују га активирани Т лимфоцити, НК ћелије, моноцити и макрофаги. Он је најважнији проинфламаторни цитокин одговоран за активацију и регулацију фагоцитне функције мононуклеарних ћелија. TNF- α и INF- γ имају штетне ефекте на развој ембриона и имплантацију при великим концентрацијама. Укључени су у необјашњиве спонтане побачаје.

2.5. Значај и циљ истраживања

Значај овог истраживања би био одређивање нивоа цитокина мање инвазивним методама, следствено брже и јефтиније клиничко и лабораторијско испитивање пацијенткиња код којих је ендометријални полип узрок инфертилитета.

Једноставније пратити и припремати пацијенткиње за фертилизацију, као и пратити терапијски одговор пацијенткиња након полипектомије које имају дугогодишњи проблем менометрорагија. Податке можемо применити и код праћења пацијенткиња са субмукозним миомима који дају веома сличну симптоматологију.

Проширивањем истраживања у смислу праћења промена на нивоу ендометријума код пацијенткиња са IUD (интраутерусним системима-спиралама) могуће је повећати ефикасност оваквих контрацептива, а евентуално смањити непожељна дејства ових контрацептива-честа компликација је пелвична инфламаторна болест и тубооваријални апсцеси.

Циљеви:

Циљ ове проспективне студије је утврдити нивое цитокина: у ткиву полипа, ендометријума, у испирку утеруса и у венској крви, код инфертилних пацијенткиња са ендометријалним полипом. Испитивање ће бити извршено и пре и након оперативног захвата, хистероскопске полипектомије. Ова група пацијенткиња ће се у студији посматрати као експериментална група.

Такође, циљ је да се утврди и промена у нивоима цитокина: у ткиву ендометријума, у испирку утеруса и у венској крви, код инфертилних пацијенткиња, али које немају ендометријални полип. Оне ће бити посматране као контролна група ове студије.

Следећи циљ истраживања је да се испита корелација између експресије цитокина у полипу, у односу на околно ткиво ендометријума, код експерименталне групе пацијенткиња.

Такође, утврдиће се степен повезаности експресије цитокина у ткиву полипа и ендометријуму и концентрације у серуму и испирку утеруса у експерименталној групи пацијенткиња.

Код контролне групе пацијенткиња ће се утврдити да ли постоји повезаност између експресије цитокина у ткиву ендометријума у односу на измерене концентрације у серуму и испирку утеруса.

Потребно је испитати и степен повезаности између експресије цитокина у серуму пацијенткиња експерименталне групе пре и месец дана након хистероскопске полипектомије.

Коначно, циљ је утврдити разлике у нивоима цитокина између експерименталне и контролне групе пацијенткиња.

Сходно циљу, постављени су следећи задаци:

1. Одредити ниво гликоделина (PP14), INF- γ , TNF- α у серуму пацијенткиња пре оперативног захвата и месец дана након оперативног захвата код експерименталне групе пацијенткиња (пацијенткиње са ендометријалним полипом) и код контролне групе пацијенткиња (пацијенткиње које немају полип).

2. Одређивање нивоа гликоделина (PP14), IFN- γ , TNF- α у испирку утеруса узетог у току операције, код експерименталне групе пацијенткиња (пацијенткиње са ендометријалним полипом) и код контролне групе пацијенткиња (пацијенткиње које немају полип).
3. Испитати експресију гликоделина (PP14), IFN- γ , TNF- α у ткиву полипа и ендометријалном ткиву код пацијенткиња са полипом, као и у ендометријуму код пацијенткиња контролне групе (које немају полип).

2.6. Веза истраживања са досадашњим истраживањима

Претходне студије су показале да ендометријални полипи у кавуму утеруса доводе до повећања концентрације ендометријалних протеина и цитокина у испирку материце. Ендометријални полипи утичу на промену нивоа ендометријалних протеина и цитокина током различитих фаза менструалног циклуса. Неуспех имплантације је главни разлог неплодности код иначе здравих жена. Просечни проценат имплантације приликом *in vitro* фертилизације је око 25% (De la Santos et al. 2003).

Неадекватна рецептивност материце је узрок скоро 2/3 неуспелих покушаја имплантације, док је ембрион одговоран за 1/3 ових неуспеха. Боље поимање механизма који регулише имплантацију ембриона би могло да повећа могућност лекара да лече неплодност, спрече ране прекиде трудноће и развију нова средства за контрацепцију.

Ендометријална рецептивност је тачка загушења репродуктивног процеса. Модерни приступи, који укључују припрему ембриона на одговарајући начин (*embryonal hatching*) или узимање узорка из материце заједно са факторима који би требало да побољшају везивање, би могли да повећају шансу за имплантацију поготово у случајевима где је имплантација више пута била неуспешна (Achache and Revel, 2006).

Узорци ендометријалне биопсије се могу користити за идентификацију молекула који су повезани са рецептивношћу ендометријума да би се добио бољи увид у процес имплантације код људи.

Досадашњи подаци указују да ендометријална рецептивност може да буде измењена уколико је повећана концентрација гликоделина око овулације, када би те вредности требале бити ниске или да их нема. Концентрације гликоделина у ендометријуму и последично кавуму утеруса су максималне 6 дана после LH пика (Li i dr, 1993). Концентрације гликоделина у испирку утеруса и плазми су знатно више код пацијенткиња са полипом ендометријума у поређењу са контролном групом (Spencer i dr, 2002).

Концентрације TNF- α су значајно веће након полипектомије, лучење достиже врхунац у секреторној фази (Wolff i dr, 2000; Tibibzadeh i dr, 1995). TNF- α и IFN- γ имају штетне ефекте на развој ембриона и имплантацију при великим концентрацијама. Укључени су у необјашњиве спонтане побачаје.

Досада не постоји ни један стручни рад који је пратио промену више од два цитокина у серуму и испирку утеруса, као ни радови који су пратили корелацију истих цитокина у ткиву самог полипа и ендометријума.

2.7. Методе истраживања

2.7.1 Врста студије

Дизајн студије

Истраживање је планирано у виду клиничке, проспективне студије на одређеном узорку (80 пацијенткиња). Прикупљање узорака крви, ткива полипа, ендометријалног ткива и испирка утеруса током хистероскопије је изведено у Гинеколошко акушерској клиници Народни фронт у Београду у периоду од 01.06.2012. до 01.11.2013. а на основу одобрења Етичког одбора ГАК Народни фронт дел.број 04-24/3-1 од 24.05.2012. Испитиване пацијенткиње су са територије Републике Србије, Републике Српске и Републике Црне Горе које су хоспитализоване у циљу лечења инфертилитета или припреме за методе АРТ.

2.7.2. Популација која се истражује

Студијска популација

У овој проспективној, контролисаној клиничкој студији учествоваће пацијенткиње у *генеративном периоду (старости од 20-43 година) код којих је дијагностикован едометријални полип као узрок инфертилитета*. Дијагностиковање полипа ће бити вршено трансвагиналним ултразвучним прегледима, током прве фазе циклуса или хистеросонографским прегледима, као и током саме хистероскопије код пацијенткиња са сумњом на ендометријалну полипозу, а на основу анамнестичких података. Поред наведене групе у студији ће учествовати и контролна група пацијенткиња исте старосне доби, које се лече од инфертилитета и које немају ендометријални полип. Предвиђено је праћење пацијенткиња током месец дана након интервенције у смислу узимања узорака периферне венске крви и одређивања нивоа истих цитокина, и контролни УЗ преглед.

I група (50) – инфертилних пацијенткиња у генеративном периоду код којих је дијагностикован ендометријални полип;

II група (30) – инфертилних пацијенткиња у генеративном периоду код којих није дијагностиковано обољење гениталног тракта тј. ендометријални полип (контроле).

- Критеријуми за укључење у студију су испитанице са верификованим ендометријалним полипом старости од 20 до 43 године, које се лече од примарног или секундарног инфертилитета и инфертилне испитанице без ендометријалног полипа исте старосне доби.

-Критеријуми за искључење из студије за обе групе испитаница је постојање субмукозног миома, ендометриозе, карцинома ендометријума, аномалија утеруса, пацијенткиње које су имале операције на утерусу и тубама и пацијенткиње са неуспешним претходним стимулацијама овулације.

Имунохистохемијско бојење парафинских исечака:

Експериментални део истраживања ће се спровести на оперативном ткивном материјалу који је добијен након хистероскопије. Као методе, користиће се стандардна патохистолошка анализа са рутинском методом бојења Хематоксилин-Еозин (*H&E*) и имунохистохемијски метод.

На *H&E* обојеним препаратима, вршиће се морфолошко-патохистолошка анализа са дефинисањем свих параметара од значаја: хистолошког типа полипа, митотског индекса израженог кроз број митотских фигура на 10 поља великог увећања, присуство регресивних промена, стање околног ендометријума, са посебним акцентом на прецизно одређивање хистолошке фазе менструалног циклуса.

Имунохистохемијски метод ће укључити анализу експресије TNF α , IFN γ , гликоделин (PP14), применом палете моно и поликлоналних антитела различитих произвођача, према препорученим протоколима, коришћењем узорака ткива фиксираног у формалину, укалупљеног у парафин. Евалуација имунохистохемијске анализе биће вршена семиквантитативном проценом експресије испитиваних маркера, скоровањем према скалама специфичним за сваки маркер. Експресија TNF α , IFN γ , гликоделин (PP14), ће бити одређивана на основу процента имунореактивних ћелија. На основу ове експресије формираће се групе са ниским (0-15%), умереним (16-30%) и високим пролиферативним односно апоптотским индексом (31-100%)

Сва имунохистохемијска бојења биће изведена уз контролу квалитета и специфичности бојења, применом позитивних и негативних контрола према пропозицијама *UK NEQAS (UK National External Quality Assessment for Immunocytochemistry)*.

Микроскопска анализа тумора и оцењивање експресије маркера вршиће се на микроскопу типа *Carl Zeiss, Axioscop 40*. Препарати са репрезентативним пољима, сликаће се коришћењем три микроскопска увећања (x10, x20 и x40), помоћу камере *Canon PC 1089*.

2.7.3. Узорковање

Узимање узорака

Периферна венска крв се узима код пацијенткиња обе испитиване групе пре хистероскопске операције и месец дана након операције.

1. За анализу цитокина у серуму: 5 ml периферне венске крви узима вакуаинером са хепарином, пре операције, ради одређивања $INF\gamma$, $TNF\alpha$, гликоделин (PP14) и центрифугира се 10 минута на 2500 обртаја. Супернатант се сакупи и чува на температури од $-20^{\circ}C$, а потом се матријал шаље у лабораторију за молекулску медицину и испитивање матичних ћелија Факултета медицинских наука у Крагујевцу. Детекција и концентрација наведених цитокина ће бити одређиване ELISA методом.
2. Узимање испирка утеруса за време операције ради одређивања $TNF\alpha$, $IFN\gamma$, гликоделина (PP14): убризгано је 10 ml физиолошког раствора у кавум утеруса и одмах аспирирано да би се избегла контаминација. Узорак је центрифугиран на 2500 обртаја 10 минута. Супернатант је сакупљен и чуван на температури од $-20^{\circ}C$, а потом је материјал послат у лабораторију за молекулску медицину и испитивање матичних ћелија Факултета медицинских наука у Крагујевцу. Детекција и концентрација наведених цитокина ће бити одређиване ELISA методом.
3. Узимање дела одстрањеног полипа и дела ендометријалног ткива уз полип ради имунохистохемијског испитивања код пацијенткиња са верификованим ендометријалним полипом као и узимање дела ендометријалног ткива код пацијенткиња контролне групе: ткиво дела полипа и ендометријума поред полипа је фиксирано у 10% формалину, а затим утопљено у парафин. Препарат је сечен на резове дебљине 4 μ m и бојен хематофикселином и еозином, а потом ће се радити имунохистохемијско испитивање.
4. Фиксација, дехидратација, просветљавање и прожимање у парафину ткивних узорака помоћу апарата *Leica ASP 300*: фиксација ће се изводити у 4% пуферисаном формалину, или смрзавањем у течном азоту и фиксацијом у ацетону. Смрзнуто ткиво се до сечења на криотому чува на $-80^{\circ}C$. Сечење парафинских калупа ће се изводити на аутоматском ротационом микротому *LKB Historange* на резове дебљине 4 μ , а смрзнутог ткива на криотому дебљине 5-7 μ , а затим бојење- хематоксилин/еозином (HE бојење).
5. Монтирање ткивних исечака на стаклене предметне плочице: пресеци који се користе за имунохистохемију се наносе затим на Суперфрост + предметна стакла.
6. Депарафинизација и дехидратација: парафински исечци ткива ће се депарафинисати ксилолом, третирати серијом разблажења алкохола (70%, 95% и 100% етанола), а затим испирати у води.
7. Елиза тест: матерични узорци и узорци плазме од сваке пацијенткиње ће се додавати у одвојене трослојне лабораторијске посуде и стављати у инкубатор преко ноћи на $37^{\circ}C$. Следећег дана лабораторијске посуде ће се опрати 3 пута физиолошким раствором који је разблажен фосфатима и блокирање ће се радити на собној температури у трајању од једног сата употребом млека са 1 % масти. Лабораторијске посуде ће се опрати више пута физиолошким раствором који је разблажен фосфатима и остављен у инкубатору у трајању од 2 сата на температури од $37^{\circ}C$ са 100 микролитара пилећих антигликоделинских антитела прочишћених путем афинитетне

хроматографије у односу 1:50. Лабораторијске посуде ће се поново опрати 3 пута а, другостепено антитело (зечији и антипилећи IgG удружен са алкалном фосфатазом) ће се додавати у размери од 1:35000 у физиолошки раствор који је ублажен и стављен у инкубацију на 37 °C у трајању од 2 сата. Лабораторијске посуде ће се поново опрати и додаваће се супстрат паранитрофенил фосфат. Оптичка густина ће се мерити на 405 nm после 30 минута (Poddaridr, 1998).

2.7.4. Варијабле које се мере у студији

Ниво цитокина у серуму: пре операције, одређују се нивои $INF\gamma$, $TNF\alpha$, гликоделин (PP14). Детекција и концентрација наведених цитокина се одређују ELISA методом. Периферна венска крв се узима код пацијенткиња обе испитиване групе пре хистероскопске операције и месец дана након операције.

Ниво цитокина у испирку утеруса за време операције ради одређивања $TNF\alpha$, $IFN\gamma$, гликоделин (PP14).

2.7.5. Снага студије и величина узорка

Величина узорка одређена је на основу формуле за израчунавање величине узорка имплементирану у софтвер PASS 11.0. Величина узорка одређена је за моћ студије $1-\beta=0,8$ и ниво грешке $\alpha=0,05$. Да би се открила значајна разлика између контролне и групе жена са полипозом по серумском гликоделину од 25 ng/ml потребно је по 9 и 15 пацијенткиња док је за разлику утериног испирка од 160 ng/ml потребно по 30 и 48 пацијенткиња. За исте пацијенте потребно је по 77 и 124 пацијенткиње да би се добила значајна разлика од 2.5 ng/ml $TNF-\alpha$. Насупрот томе, да би се добила значајна разлика између група по $IFN-\gamma$ од 18.3 ng/ml потребно је по 10 и 16 пацијената. Из приложеног се види да је минималан број пацијената за ову студију 9 у контролној и 15 у експерименталној, док је оптималан број 30 и 48. Разлику по $TNF-\alpha$ тешко је доказати јер су остала истраживања показала да се ради о веома великом варијабилитету испитиваних параметара ($CV>3$ и $CV\approx 0.8$) и за ове анализе потребни су велики узорци.

2.7.6. Статистичка анализа

У статистичкој анализи биће коришћене дескриптивне и аналитичке статистичке методе. Од дескриптивних, биће коришћени апсолутни и релативни бројеви, мере централне тенденције (аритметичка средина, медијана) и мере дисперзије (стандардна девијација, инвервал варијације). Од аналитичких статистичких метода биће коришћени тестови разлике, параметарски и непараметарски.

Од параметарских тестовабиће коришћени Т тест и ANOVA поновљених мерења. Од непараметарских тестова биће коришћени Ни-квадрат тест, McNemar тест, Mann-

Whitney U тест и Wilcoxon тест. Дискриминациона и логистичка регресиона анализа биће коришћени у циљу дискриминације испитиваних параметара.

Сви резултати биће обрађени помоћу SPSS 15.0 софтверског пакета. Вероватноћа одбацивања нулте хипотезе биће 0,05.

2.8. Очекивани резултати докторске дисертације

Очекује се да ће добијени резултати:

-првенствено указати на постојање промена у квалитету ендометријума, а следствено, праћењем и мењањем непожељних фактора на нивоу ендометријума можемо повећати успех метода АРТ кодинфертилних пацијенткиња са ендометријалним полипом.

-Обзиром на релативно мали број стручних радова који су се на овај начин бавили тематиком ендометријалне рецептивности у генеративном периоду жена са дијагностикованим ендометријалним полипом добијени резултати могу да буду од велике користи у третману инфертилних пацијенткиња са дијагностикованим ендометријалним полипом.

-Корелацијом добијених резултата између експресије цитокина у ткиву полипа и околном ендометријуму и измерене концентрације цитокина у серуму и испирку утеруса можемо добити важне податке: како што једноставније пратити и припремити пацијенткиње за фертилизацију, као и пратити терапијски одговор пацијенткиња након полипектомија које имају дугогодишњи проблем менометрорагија.

-Податке можемо применити и код праћења пацијенткиња са субмукозним миомима који дају веома сличну симптоматологију.

-Проширивањем истраживања у смислу праћења промена на нивоу ендометријума код пацијенткиња са IUD (интраутерусним системима-спиралама) могуће је повећати ефикасност оваквих контрацептива, а евентуално смањити непожељна дејства ових контрацептива-честа компликација је PID и тубооваријални апсцеси.

2.9. Оквирни садржај дисертације

Незауостављив процес демографског старења има дубоке последице на економску, здравствену, социјалну и политичку сферу друштва због специфичних и разноврсних потреба старог становништва. Специфичности родних модела старења пре свега су последица утицаја низа фактора који делују у одређеним друштвеним околностима и конкретном друштвеном окружењу. Родне разлике у погледу брачних, образовних и економских карактеристика су последица преовлађујућег модела родних улога у породици и у друштву, али су и последица релевантног понашања жена и мушкараца. Њихова индивидуална животна искуства јесу под утицајем ових друштвено конструисаних разлика, а то се одражава и на њихово здравствено стање. Стога се род сматра важном

детерминантом здравља, која додатно обликује обрасце изложености факторима ризика по здравље и оболевање, приступ здравственој заштити, као и доступност лечења.

Студија ће се бавити испитивањем родно специфичних образаца старења, са посебним освртом на карактеристике здравственог стања, здравствених потреба и коришћења здравствених услуга у популацији старих особа у Србији.

Истраживањем би била обухваћена популација старих преко 65 година. Као основа за анализу биће коришћени подаци из трећег националног Истраживања здравственог стања становника, урађеног по типу студије пресека масовним анкетирањем случајног, репрезентативног стратификованог двоетапног узорка становништва наше земље.

Очекујемо да многи суптилнији локални, родно-специфични обрасци старења буду разоткривени овом студијом ван оквира онога што је познато у високо развијеним привредама. Верујемо да би се дубоким истраживањем резултата масовног анкетирања спроведеним од стране мреже јавно здравствених Института у Србији, могла открити драгоцену рањива места која остављају простор за помоћ старијим особама. Такве интервенције, циљано смишљене да се олакша терет морбидитета у сенијуму, би могле имати и родно-специфичан карактер с обзиром на значајне и дубоке разлике између мушкараца и жена у овој сфери.

3. Предлог ментора

Комисија за ментора ове докторске дисертације предлаже **доц. др Марију Шорак**, доцента Факултета медицинских наука Универзитета у Крагујевцу за ужу научну област Гинекологија и акушерство. Доц. др Марија Шорак 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

Доц. др Марија Шорак поседује стручне и научне компетенције које су комплементарне са предметом истраживања и планираном методологијом.

Радови предложеног ментора који су у вези са темом докторске дисертације:

1. Kastratović T, Tanasković I, Lačković V, Šorak M, Stanković V, Ljujić B, Sedlar S, Živanović A. Mitotic activity of smooth muscle cells of the myoma: Does hormonal stimulation have an effect on the number of mitoses? Arch Biol Sci 2010; 62(1): 39-45.
2. Dimitrijevic A, Protrka Z, Stankovic V, Djuric J, Sorak M, Zivanovic A, Hajrovic S, I Preljevic. Endometrial thickness and beginning of bleeding as prospective markers for the risk of surgical intervention after intracervical application of misoprostol in early pregnancy failure. HEALTHMED 2012; 6(4):1394-1400.

3. T. Kastratović, S. Arsenijević, Z. Matović, M. Mitrović, I. Nikolić, Z. Milosavljević, Z. Protrka, M. Šorak, J. Đurić. Methotrexate and myotrexate induce apoptosis in human myoma fibroblasts (T hES cell line) via mitochondrial pathway. Acta Poloniae Pharmaceutica. 2015; 72(3):455-464.
4. Živanović A, Brkić M. Dijagnostika mioma uterusa: Transvaginalni color Doppler. U Živanović A: Miomi benigni tumori materice. Izdavač Medicinski fakultet u Kragujevcu 2000:80-2.
5. Dević A, Vasiljević M, Dević Al, Šorak M. Ovarian Dysgerminoma. Serbian Journal of Experimental and Clinical Research 2015; 17 (1): 67–70.

4. Научна област дисертације

Научна област: Медицина. Ужа научна област: Гинекологија и акушерство.

5. Научна област чланова комисије

1. Проф. др Миодраг Лукић, редовни професор – емеритус Факултета медицинских наука Универзитета у Крагујевцу за ужу научну област Микробиологија и имунологија, председник;
2. Проф. др Младенко Васиљевић, редовни професор Медицинског факултета у Београду, за ужу научну област Гинекологија и акушерство, члан;
3. Проф. др Зоран Протрка, ванредни професор Факултета медицинских наука Универзитета у Крагујевцу за ужу научну област Гинекологија и акушерство, члан;

Закључак и предлог Комисије

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

Предложена тема је научно оправдана и оригинална, дизајн истраживања прецизно постављен и дефинисан, а научна методологија јасна и прецизна. Ради се о оригиналном научном делу које има за циљ да испита родно специфичне образаце старења, са посебним освртом на карактеристике здравственог стања, здравствених потреба и коришћења здравствених услуга у популацији старих особа у Србији.

Комисија предлаже Наставно-научном већу Факултета медицинских наука Универзитета у Крагујевцу да прихвати пријаву теме докторске дисертације кандидата др Ане Девић, под називом „**Нивои цитокина пре и после хистероскопске полипектомије код инфертилних пацијенткиња**“ и одобри њену израду.

ЧЛАНОВИ КОМИСИЈЕ

1. Проф. др Миодраг Лукић, редовни професор – емеритус Факултета медицинских наука Универзитета у Крагујевцу за ужу научну област Микробиологија и имунологија, председник;
-

2. Проф. др Младенко Васиљевић, редовни професор Медицинског факултета у Београду, за ужу научну област Гинекологија и акушерство, члан;
-

3. Проф. др Зоран Протрка, ванредни професор Факултета медицинских наука Универзитета у Крагујевцу за ужу научну област Гинекологија и акушерство, члан;
-

У Крагујевцу, 30.11.2016. године