

**NASTAVNO NAUČNOM VEĆU MEDICINSKOG FAKULTETA
UNIVERZITETA U BEOGRADU**

Na sednici **Nastavno-naučnog veća** Medicinskog fakulteta u Beogradu, održanoj dana 05.06.2024. godine, broj:19/XXVI-1/3-JK, imenovana je komisija za ocenu završene doktorske disertacije pod naslovom:

„Uloga interleukina 6,8 i 18 u patogenezi akutnog respiratornog distres sindroma“

kandidata dr Jelene Kuzmanović, zaposlene u Univerzitetском kliničko-bolničkom centru “Zvezdara” u Beogradu, u službi za patohistološku dijagnostiku. Mentor je profesor dr Slobodan Savić, komentor je profesor dr Sofija Glumac.

Komisija za ocenu završene doktorske disertacije imenovana je u sastavu:

1. Doc. dr Tamara Martinović, docent Medicinskog fakulteta u Beogradu
2. Doc. dr Milenko Bogdanović, docent Medicinskog fakulteta u Beogradu
3. Prof. dr Stojan Petković, profesor Medicinskog fakulteta u Novom Sadu

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

IZVEŠTAJ

A) Prikaz sadržaja doktorske disertacije

Doktorska disertacija dr Jelene Kuzmanović napisana je na ukupno 47 strana i podeljena je na sledeća poglavlja: uvod, ciljevi rada, materijal i metode, rezultati, diskusija, zaključci i literatura. U disertaciji se nalazi ukupno 11 tabela, 6 grafikona i 19 slika. Doktorska disertacija sadrži sažetak na srpskom i engleskom jeziku, biografiju kandidata i podatke o komisiji.

U **uvodu** je definisano šta je akutni respiratorni distres sindrom (ARDS). Pored definicije, detaljno je predstavljen razvoj dijagnostičkih procedura i kliničkih kriterijuma za postavljanje dijagnoze ovog poremećaja, hronološki od prvih opisa u stručnoj literaturi do danas. Posebno su istaknuti aktuelni klinički kriterijumi za postavljanje dijagnoze. Navedeni su etiološki faktori koji dovode do nastanka ARDS-a, kao i činjenica da ovaj poremećaj ima visoku učestalost smrtnosti, prema podacima iz literature, što ukazuje na značaj pronalaženja što

boljeg terapijskog pristupa ovoj hipoksemiji refrakturnoj na terapiju kiseonikom. Izneti su klinički kriterijumi za dijagnostiku ARDS-a, uz uporedni prikaz histoloških i radioloških odlika ARDS-a. Dat je detaljan pregled razvoja pluća od embrionalnog do adultnog u cilju prikaza ćelija koje učestvuju u razmeni gasova kao osnovnoj funkciji pluća. Predstavljene su i histološke faze razvoja ARDS-a.

Takođe su opisani i mehanizmi aktivacije citokina koji koju imati potencijalnu ulogu u patogenezi ARDS-a.

Ciljevi rada su precizno definisani. Cilja rada je određivanje prisustva IL6, IL8 i IL18 u tkivu pluća dobijenog na autopsiji odraslih bolesnika umrlih pod kliničkom slikom ARDS-a. Takođe kao cilj rada bila je i svetlosno i elektronsko mikroskopska analiza oštećenja epitelnih i endotelnih ćelija u tkivu pluća bolesnika umrlih pod kliničkom slikom ARDS-a.

U poglavlju **materijal i metode** je navedeno da se radi o studiji preseka koja je poredila prisustvo interleukina u tkivu pluća umrlih od ARDS-a, a prethodno povređenih u saobraćaju, i grupe pacijenata umrlih od prirodne smrti, bez pridruženih bolesti srca i pluća. Svi kriterijumi za uključivanje u studiju su precizno i jasno navedeni i prikazani, kao i kriterijumi za isključivanje iz studije. Detaljno je prikazano na koji način su formirane grupe ispitivanih umrlih od ARDS-a kojih je bilo 35 i kontrolne grupe koju čine uzorci od 14 pacijenata. Svi pacijenti iz grupe umrlih od ARDS-a su obdukovani na Institutu za sudsku medicinu “Dr Milovan Milovanović” Medicinskog fakulteta Univerziteta u Beogradu. Pacijenti iz grupe kontrola su obdukovani u Univerzitetskom kliničko-bolničkom centru “Zvezdara”. Materijal je fiksiran, kalupljen i bojen metodom HE na Institutu za patologiju Medicinskog fakulteta u Beogradu, a imunohistohemijska bojenja na ispitivane interleukine su urađena u laboratoriji Beo-lab u Beogradu. Ultrastrukturalna analiza tkiva pluća umrlih od ARDS-a kao i uzoraka iz kontrolne grupe je urađena na transmisionom elektronskom mikroskopu u Institutu za histologiju i embriologiju “Dr Aleksandar Kostić” Medicinskog fakulteta u Beogradu. Ova studija je sprovedena u skladu sa Helsinškom deklaracijom, a odobrena je i od strane Etičkog komiteta, Medicinskog fakulteta, Univerziteta u Beogradu. Analizom na svetlosnom mikroskopu prikazani su histološki kriterijumi za postavljanje dijagnoze, uz poređenje u odnosu na kontrolnu grupu. Ultrastrukturalna analiza sprovedena je na ultratankim isečcima ćelija kontrastiranim uranil-acetatom i olovo-citratom na elektronskom mikroskopu. Na dobijenim slikama identifikovana su oštećenja alveolarno-kapilarne membrane u uzorcima

umrlih od ARDS-a i prisustvo hijalinih membrana, uz odsustvo ovakvog nalaza na slikama tkiva iz kontrolne grupe.

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 87 referenci.

B) Provera originalnosti doktorske disertacije

Na osnovu Pravilnika o postupku provere originalnosti doktorskih disertacija koje se brane na Univerzitetu u Beogradu i nalaza izveštaja iz programa iThenticate kojim je izvršena provera originalnosti doktorske disertacije „Uloga interleukina 6, 8 i 18 u patogenezi akutnog respiratornog distres sindroma”, autora Jelene M. Kuzmanović, utvrđeno je podudaranje teksta od 13%. Ovaj stepen podudarnosti posledica je navođenja opštih mera i podataka, opisa postupaka obrade tkiva koje se primenjuju u laboratorijskoj praksi, kao i dela publikovanih rezultata doktorandovih istraživanja, koji su proistekli iz disertacije doktoranda, što je u skladu sa članom 9. Pravilnika.

C) Kratak opis postignutih rezultata

Histološka analiza parafinskih isečaka tkiva obojenih hematoxilin-eozin metodom pokazala je da u ispitivanim uzorcima umrlih od ARDS-a postoji oštećenje endotela krvnih sudova, epitela alveolarnih septi, duž kojih se pruža hijalin, i da je u lumenu alveola bio prisutan edem i gust zapaljenski infiltrat. Analiza tkiva pluća umrlih prirodnom smrću pokazala je pasivnu hiperemiju, kompenzatorni efizem i zadebljanje ogranaka arterije pulmonalis. Pokazano je, imunohistohemijskim metodama, da je u isečcima umrlih od ARDS-a došlo do destrukcije zida alveola i oštećenja vaskularnog korita.

U svrhu identifikacije različitih ćelijskih elementa rađena su različita imunohistohemijska bojenja. Za identifikaciju epitelnog sloja alveolarnog zida korišćen je citokeratin, a dokazivanje epitelnog oštećenja KL-6/MUC1. Za demarkaciju oštećenja endotela korišćeni faktor VIII, e-kadherin i β katenin. Za identifikaciju klase limfocita za koju je pretpostavljeno da ima ulogu u produkciji interleukina korišćeno je bojenje na CD8. Analiza

ovih preparata je pokazala da postoje oštećenja alveolarnog zida i endotela kapilara kod pacijenata umrlih od ARDS-a.

Imunohistohemijskim bojenjima je pokazano prisustvo interleukina 6, 8 i 18 u autopsijskom materijalu pacijenata umrlih od ARDS-a. Pozitivnost ispitivanih interleukina u uzorcima obolelih od ARDS-a bila je statistički visoko značajno veća u odnosu na kontrolnu grupu.

Ultrastruktorna analiza na transmisionom elektronskom mikroskopu pokazala je da su u uzorcima pluća obolelih od ARDS-a u alveolarnom prostoru prisutni edem i hijaline membrane uz nedostatak ili nekrozu alveolarnih epitelnih ćelija, dok su u kontrolnim uzorcima ove ćelije bile očuvane. Pokazana je i nekroza endotelne ćelije kapilara i zadebljanje endotelne bazalne membrane u grupi obolelih od ARDS-a.

Ispitivanje korelacije imunohistohemijske pozitivnosti na interleukine 6, 8 i 18 sa godinama života pacijenata pokazalo je da godine života negativno koreliraju sa pozitivnošću sva tri ispitivana interleukina. Korelacija broja neutrofilnih granulocita i pozitivnosti ispitivanih interleukina pokazala je statistički značajnu pozitivnu korelaciju između broja neutrofilnih granulocita i pozitivnosti na IL18, dok sa druga dva ispitivana interleukina ne postoji statistički značajna korelacija.

D) Uporedna analiza doktorske disertacije sa rezultatima iz literature

Ova doktorska disertacija je prva u kojoj je rađeno određivanje prisustva interleukina 6, 8 i 18 u tkivu pluća dobijenom na autopsiji umrlih neposredno od posledica ARDS-a čiji je etiološki faktor politraumatizam. Interleukini 6, 8 i 18 su predloženi kao mogući biomarkeri sa ulogom u patogenezi ARDS-a (Garcia Laorden et al, 2017; Dolinay et al, 2012; Aisiku et al, 2016). U ovom istraživanju pokazano je prisustvo interleukina 6,8 i 18 u tkivu pluća umrlih od ARDS-a, kao posledice politraume, što je u saglasnosti sa rezultatima autora koji su ispitali nivoe različitih interleukina u bronhoalveolarnom lavatu i krvi (Stapleton et al, 2019; Bhargava et al, 2012). Rezultati koji se odnose na histološke odlike eksudativne faze dobijeni u ovoj disertaciji su u saglasnosti sa Beasley et al, 2010 i Anderson et al, 1992 koji su opisali navedene promene na svetlosnom mikroskopu. Ultrastrukturne promene koje su opisane alveolarno-kapilarnoj membrani i prisustvo hijalinih membrana u tkivu u ovom radu slažu se sa navodima drugih autora (Anderson et al,1992). Imunohistohemijska bojenja koja su imala za cilj da označe oštećenje kontinuiteta zida krvnog suda, prisustvo infiltrata neutrofilnih granulocita i oštećenje alveolarnog zida takođe su u saglasnosti sa navodima drugih autora

(Capelozzi et al, 2017). U ovom istraživanju histološki preparati su bojeni imunohistohemijski na citokeratin, faktor VIII, e-kadherin, β katenin, CD8 i KL-6/MUC1 u cilju identifikacije različitih ćelijskih elemenata. U rezultatima ove disertacije pokazano je pozitivno bojenje označenih ćelijskih struktura. Dobijeni rezultati su u saglasnosti sa rezultatima (Kenneth et al, 2016; Papazian et al, 1998; Avecillas et al, 2006). Ovakav rezultat značajan je, jer pokazuje da kvalitet informacije koja se dobija analizom materijala sa obdukcije može biti adekvatno informativan i u skladu sa informacijama koje mogu da se dobiju biopsijskim materijalom.

E) Objavljeni radovi koji čine deo doktorske disertacije

Kuzmanović J, Savić S, Bogdanović M, Martinović T, Bumbaširević V, Stevović TK.

Micromorphological features and interleukin 6, 8, and 18 expressions in post-mortem lung tissue in cases with acute respiratory distress syndrome. *Forensic Sci Med Pathol.* 2024; 20(1):1-7. (M22, IF 1,8)

F) Zaključak (obrazloženje naučnog doprinosa)

Doktorska disertacija „Uloga interleukina 6, 8 i 18 u patogenezi akutnog respiratornog distres sindroma” dr Jelene Kuzmanović, je, prema našim saznanjima, prvi o rad u koji je opisuje prisustvo interleukina 6, 8 i 18 u autopsijskom materijalu pacijenata umrlih sa razvijenim akutnim respiratornim distres sindromom. Doktorska disertacija predstavlja originalni naučni doprinos jer je pokazala mogućnost ispitivanja prisustva interleukina u autopsijskom materijalu. U poređnom analizom ispitivanih i kontrolnih uzoraka pokazano je da prisustvo ispitivanih interleukina nije posledica smrti organizma i da je autopsijski materijal u ovom, kvalitativnom, smislu jednako informativan kao materijal dobijen biopsijom, ali uz dodatnu prednost veličine uzorka kod autopsijskog materijala. Ovakav pristup bi mogao, u budućim istraživanjima, da obezbedi i istovremeno ispitivanje većeg broja citokina koji su uključeni u patogenezu ARDS-a. Imajući u vidu da rezultati ove disertacije sugerišu da su osobe sa pretrpljenom politraumom pod većim rizikom da razviju ARDS, koji će progredirati do smrtnog ishoda, te da su te osobe bez hroničnih oboljenja, ističe potrebu za izučavanje i razjašnjavanje patofizioloških mehanizama ovog stanja.

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 Jelene Kuzmanović i odobri njenu javnu odbranu radi sticanja akademske titule doktora medicinskih nauka.

U Beogradu, 18.06.2024.

Članovi Komisije:

Doc. dr Tamara Martinović

Doc. dr Milenko Bogdanović

Prof. dr Stojan Petković

Mentor:

Prof. dr Slobodan Savić

Komentor:

Prof. dr Sofija Glumac
