

**УНИВЕРЗИТЕТ У БАЊОЈ ЛУЦИ**  
**ФАКУЛТЕТ: МЕДИЦИНСКИ**



**ИЗВЈЕШТАЈ**  
*о оцјени урађене докторске тезе*

**ПОДАЦИ О КОМИСИЈИ**

На основу члана 149. Закона о високом образовању („Службени гласник Републике Српске“. Број 73/10, 104/11 и 84/12), и члана 54. Статута Универзитета у Бањој Луци, Наставно-научно вијеће Медицинског факултета на сједници одржаној 10.07.2013. године, донијело је одлуку бр.: 18-3-491/2013 о именовању Комисије за оцјену урађене докторске тезе мр Сање Гргић под називом: „Значај интратекалног олигоклоналног имуноглобулина Г у дијагнози и прогнози мултипле склерозе“ у саставу:

1. Др Милан Арбутина, ванредни професор Медицинског факултета Универзитета у Бањој Луци, ужа научна област неурологија-предсједник,
2. Др Јелена Друловић, редовни професор Медицинског факултета Универзитета у Београду, ужа научна област неурологија-члан,
3. Др Душко Рачић, ванредни професор Медицинског факултета Универзитета у Бањој Луци, ужа научна област неурологија-члан,

Након детаљног прегледа урађене докторске дисертације кандидата мр сц. др Сање Гргић, Комисија Наставно-научном вијећу Медицинског факултета Универзитета у Бањој Луци и Сенату Универзитета у Бањој Луци подноси следећи Извјештај:

**1. УВОДНИ ДИО ОЦЈЕНЕ ДОКТОРСKE ТЕЗЕ**

Докторска теза кандидата мр сц.др Сање Гргић написана је латиничним писмом (фонт Times New Roman, величина 12, проред 1,5) и штампана на А4 формату. Теза је написана прегледно, јасно и језички коректно, на 113 страница уз цитирање 136 научних референци. Садржи 7 слика које прате текст и 73 табеле. Докторска теза садржи следећа поглавља: 1. Увод, 2. Циљ истраживања и хипотеза, 3. Материјал и методе, 4. Резултати, 5. Дискусија, 6. Закључци, 7. Литература, 8. Прилог.

## 2.УВОД И ПРЕГЛЕД ЛИТЕРАТУРЕ

Уводни дио докторске дисертације предстаљен је на 26 страна, а скоро свака реченица или пасус су праћени одговарајућом референцом из рецентне литературе или актуелним извором података.

У уводном дијелу се истиче дијагностички и прогностички значај анализе квантитативних и квалитативних поремећаја имуноглобулина Г ликвора код болесника који болују од мултипле склерозе, а посебно значај анализе ликвора методом изоелектричног фокусирања (ИЕФ).

Кандидат је истакао да су лабораторијски тестови за испитивање интратекално синтетисаних имуноглобулина, на темељима бројних истраживања, усавршени у циљу постизања високе сензитивности и специфичности у дијагностиковању мултипле склерозе као и у диференцијалној дијагнози неуролошких оболења уопште.

Детаљно и хронолошки је представљен пут спознаје о значају изучавања бројних маркера у ликвору, а прије свега имуноглобулина Г, у смислу бољег разумијевања етиологије, патофизиологије, дијагнозе, тока и прогнозе мултипле склерозе.

Аутор долази до чињенице да упоредо са примјеном магнетне резонанце и евоцираних потенцијала, испитивање имуноглобулина ликвора методом ИЕФ има посебну важност у дијагностици и прогнози мултипле склерозе.

У литератури се истичу бројна истраживања са резултатима који указују на високу сензитивност ИЕФ за мултиплу склерозу, те специфичност за запаљенска оболења централног нервног система, а у новијим мање бројним истраживањима се указује и на предиктивни значај методе. У нашем окружењу ово је прво овакво истраживање.

Циљеви овог рада су проистекли из чињенице да је неопходно утврдити степен сензитивности једне методе да би она била прихваћена и да би била од користи у клиничкој пракси.

Кандидат је поставио следеће циљеве истраживања:

1. Одредити учесталост откривања интратекалне синтезе имуноглобулина Г ИЕФ методом у мултиплој склерози.
2. Одредити цитобиохемијске карактеристике ликвора код обољелих од мултипле склерозе у испитиваној групи.
3. Анализирати корелацију клиничких, неурофизиолошких и неурорадиолошких параметара код обољелих од мултипле склерозе са налазом ИЕФ ликвора и цитобиохемијским налазом ликвора.
4. Одредити предиктивни значај ИЕФ за мултиплу склерозу.

На основу досадашњих сазнања и властитог запажања кандидат полази од хипотезе да је метода ИЕФ ликвора врло сензитивна и указује на високу учесталост интратекалне синтезе олигоклоналног имуноглобулина Г код обољелих од мултипле склерозе.

Друга хипотеза говори о карактеристичном цитобиохемијском налазу ликвора код

обољелих од мултипле склерозе, а трећа је усмјерена на статистички значајну корелацију клиничких и неурофизиолошких параметара са налазом ИЕФ ликвора и цитобиохемијским налазом ликвора. Четврта хипотеза указује да је налаз ИЕФ којим се детектују олигоклоналне траке само у ликвору предиктор прогресије у клинички дијагностиковану мултиплу склерозу и развоја степена онеспособљености у мултиплој склерози, мјерено скором Проширене скале статуса онеспособљености (engl. Expanded Disability Status Scale).

European Federation of Neurological Science (EFNS) подржава употребу ИЕФ са високим предиктивним и дијагностичким значајем код болесника са мултиплом склерозом. Поред тога, ово истраживање упућује и на друге могуће активне биомаркере који су у корелацији са клиничким профилем пацијента и отвара простор за нова истраживања.

Теза значајно доприноси разумијевању и рјешавању изучаване проблематике, а као прва из ове области на нашим просторима и проведена након увођења методе у Босну и Херцеговину, има посебан значај. Сви резултати ИЕФ анализе и неурофизиолошких анализа у истраживању су прегледани и протумачени од стране аутора докторске дисертације.

Литература је рецентна и адекватна, обухвата 136 научних референци новијег датума и са значајнијим сазнањима из испитиване области код нас и у свијету. Старије референце су углавном везане за историјски контекст теме.

### 3. МАТЕРИЈАЛ И МЕТОД РАДА

Студија је кохортна, једним дијелом ретроспективна, а другим дијелом проспективна. Обухваћени су сви болесници којима је упоредо анализиран ликвор и серум ИЕФ методом, у периоду од марта 2009. године до септембра 2012. године, у Неуроимунолошкој лабораторији Неуролошке клинике Клиничког центра Бања Лука, од стране самог аутора.

У ретроспективном дијелу су укључени болесници којима је рађена ИЕФ анализа, а који су хоспитализовани у Неуролошкој клиници Клиничког центра Бања Лука у периоду од марта 2009. године до августа 2011. године, а у проспективном дијелу болесници којима је рађена ИЕФ анализа за вријеме хоспитализације у периоду од септембра 2011. године до септембра 2012. године.

Сав материјал је у наведеном периоду анализиран и ИЕФ је интерпретирано уз присутан податак о привременој дијагностичкој претпоставци. Пацијенти су категорисани према завршним дијагнозама на отпусту према Међународној класификацији Свјетске здравствене организације и потом груписани у 17 великих категорија према дијагнозама. Издвојена је група обољелих од мултипле склерозе од других оболења.

Цјелокупна студија обухвата анализу 418 болесника. Од тога је 177 болесника са мултиплом склерозом, а контролна група која је подијељена у велике категорије броји 241 болесника. Сви болесници су потписали информисани пристанак прије уласка у студију.

Као инструменти истраживања кориштени су посебно конструисани упитници, један за обољеле од мултипле склерозе, а други за болеснике контролне групе, те историје болести и отпусна писма.

Дијагноза је свим обољелима од мултипле склерозе, у оба дијела студије постављена према McDonaldovim критеријумима (ревизија 2005. године), а степен функционалне онеспособљености одређен је примјеном Expanded Disability Status Scale (EDSS) скорa. Поред тога су одређене и све друге значајне клиничке карактеристике код болесника (клиничка форма болести, дужина трајања болести, карактеристике иницијалног симптома, број релапса у 1. и 2. години код обољелих од мултипле склерозе у релапсно-ремитентној форми).

Свим испитаницима са мултиплом склерозом су урађене следеће дијагностичке процедуре: 1. батерија евоцираних потенцијала, 2. магнетна резонанца главе, 3. цитобиохемијска анализа ликвора, те 4. ИЕФ ликвора и серума.

Сви узорци ликвора и серума, паралелно, су анализирани стандардизираним методом ИЕФ у Неуроимунолошкој лабораторији Неуролошке клинике Клиничког центра Банја Лука, а према протоколу Неуроимунолошке лабораторије Клинике за неурологију Клиничког центра Србије, одакле је метода пренесена.

Квалитативно испитивање интратекалне синтезе имуноглобулина Г ликвора и серума је вршено изоелектричним фокусирањем ликвора и серума на агарози са преношењем протеина на нитроцелулозну мембрану, имунофиксацијом и бојењем имунопероксидазом.

Група свих обољелих од мултипле склерозе је, на основу налаза ИЕФ анализе, подијелена у двије групе: 1. са интратекалном синтезом олигоклоналног имуноглобулина Г и 2. без интратекалне синтезе олигоклоналног имуноглобулина Г.

Испитана је учесталост интратекалне синтезе имуноглобулина Г у ликвору код обољелих од мултипле склерозе, односно сензитивност ИЕФ методе, те специфичност методе прегледом ликвора код болесника са другим неуроолошким обољењима. Поред тога су испитане корелације, као и статистичке значајности разлика, клиничких, неурофизиолошких и неурорадиолошких параметара код обољелих од мултипле склерозе са ИЕФ и цитобиохемијским налазом ликвора. Анализиран је предиктивни значај налаза у ликвору за секундарну прогресију мултипле склерозе и достизање EDSS 4.0 и EDSS 6.0.

Примијењене методе су адекватне и савремене и омогућиле су да се добију логични и корисни резултати. Није било промјена плана истраживања, а испитани параметри су дали довољно елемената да се остваре сви задани циљеви истраживања.

Статистичка обрада података је адекватна. У анализи резултата кориштене су методе дескриптивне и аналитичке статистике. За процјену разлика са континуираним варијаблима кориштена је анализа варијансе, а за категоријске варијабле  $\chi^2$  тест. За мултипле међугрупне разлике коришћен је Бонферонијев post hoc тест.

Корелационе анализе укључивале су израчунавање Спирмановог коефицијента

ранга корелација имајући у виду непараметријску природу података.

Предиктивни значај испитиваних варијабли одређиван је Соховим хазардним пропорционалним регресионим моделима, а као мјера ефекта коришћен је Hazard ratio, уз одговарајуће 95% интервале повјерења. У Соховим моделима као исходне варијабле коришћене су секундарна прогресија, EDSS 4.0 и EDSS 6.0, док је дужина болести узимана као зависна варијабла.

Статистичка значајност је одређивана на нивоу 0.05. Обзиром да нема разлике у резултатима у ретроспективном и проспективном дијелу студије они су приказани обједињено и врло јасно.

#### 4. РЕЗУЛТАТИ И НАУЧНИ ДОПРИНОС ИСТРАЖИВАЊА

Приказане су демографске карактеристике испитиваног узорка, а потом резултати детаљне анализе групе обољелих од мултипле склерозе у смислу значајних клиничких параметара, неурорадиолошких и неурофизиолошких налаза, цитобиохемијског налаза ликвора, те налаза анализе ИЕФ методом, паралелно, ликвора и серума свих испитаника у студији.

Резултати су правилно, логично и јасно тумачени те поређени са резултатима значајних истраживања других аутора уз довољно критичности.

Научни допринос истраживања се састоји у томе да је дефинисана висока сензитивност ИЕФ методе (96,6%) код испитиване групе обољелих од мултипле склерозе, те се ова метода уз магнетну резонанцу, сврстава у најсензитивнију дијагностичку методу за мултиплу склерозу. Истраживање је указало и на 100% специфичност ИЕФ методе за запаљенска обољења. Добијени резултати су у складу са резултатима значајних истраживања Друловићеве и сарадника и McLean и сарадника, те са резултатима скоријих свјетских истраживања. Приказан је специфичан цитобиохемијски профил у ликвору обољелих од мултипле склерозе, што је у складу са резултатима из новије литературе.

Нова сазнања су да је концентрација протеина у ликвору  $>0.40$  g/L ( $p=0,049$ ) статистички значајан предиктор секундарне прогресије мултипле склерозе, односно болесници код којих је концентрација протеина у ликвору  $>0.40$  g/L имају 2,45 пута већи ризик за развој секундарне прогресије.

Концентрација протеина у ликвору  $>0.40$  g/L ( $p=0,011$ ) је статистички значајан предиктор достизања EDSS 4.0 у испитиваној кохорти болесника са мултиплом склерозом.

Поређењем групе обољелих од мултипле склерозе са и без интратекалне синтезе олигоклоналних трака, уочава се да су они без локалне синтезе чешће у релапсно-ремитентној форми, да је болест краћег трајања, да је мањи просјечни EDSS скор и да је мања активност болести у првој години.

Теоријски допринос истраживања је поред истицања дијагностичког значаја ИЕф у мултиплој склерози и указивање на бенигнији ток болести код обољелих од мултипле склерозе без локалне синтезе, на чему управо инсистирају новија истраживања.

Будућа истраживања могла би бити усмјерена на даље испитивање прогностичког значаја присуства олигоклоналних трака у ликвору обољелих од мултипле склерозе, као и на испитивање других могућих биомаркера који су у корелацији са клиничким

профилом пацијента.

Практични значај је велики за постављање брзе и тачне дијагнозе мултипле склеорзе у свакодневном раду клиничара, посебно када постоје диференцијално дијагностичке дилеме, те ради процјене прогнозе тока саме болести код доношења одлука о терапијском третману.

Дискусија показује способност кандидата да синтетизује податке, разматра резултате, доводи их у међусобну везу и упоређује са доступним подацима из новије литературе.

### 5. ЗАКЉУЧАК И ПРИЈЕДЛОГ

Докторска теза „Значај интратекалног олигоклоналног имуноглобулина Г у дијагнози и прогнози мултипле склерозе“ урађена је у складу са образложењем које је приложено приликом пријаве тезе.

Теза је урађена по правилима и принципима израде научно-истраживачког рада. Резултат је оригиналног стручног и научног рада кандидата, а вриједност јој даје практична примјенљивост добијених резултата.

Теза је методолошки добро постављена, а материјал је статистички адекватно обрађен. Закључци су засновани на релевантним чињеницама.

Резултати и закључци су практично примјенљиви и представљају оригиналан допринос струци и науци. Теза је оригинална и као прва из ове области у нашој средини посебно значајна.

Комисија за оцјену урађене докторске тезе једногласно даје позитивну оцјену докторске тезе под називом „Значај интратекалног олигоклоналног имуноглобулина Г у дијагнози и прогнози мултипле склерозе“ кандидата мр сц.др Сање Гргић и, са задовољством, предлаже Наставно-научном вијећу Медицинског факултета Универзитета у Бањој Луци и Сенату Универзитета у Бањој Луци да прихвати овај извјештај и омогући јавну одбрану тезе.

### ПОТПИС ЧЛАНОВА КОМИСИЈЕ

1. Проф. др Милан Арбутина-предсједник

\_\_\_\_\_

2. Проф. др Јелена Друдић-члан

\_\_\_\_\_

3. Проф. др Душко Рачић-члан

\_\_\_\_\_