

Универзитет у Крагујевцу  
Медицински факултет Крагујевац

## Изборном већу Медицинског факултета у Крагујевцу

### Предмет:

Извештај комисије о научној заснованости теме докторске дисертације кандидата мр Александре Симовић

Одлуком већа ментора Медицинског факултета у Крагујевцу, број 01-1400/3-1 од дана 05.03.09., именована је Комисија за оцену научне заснованости теме докторске дисертације кандидата мр Александре Симовић, под називом:

„Тропонин И – прогностички маркер перинаталне асфиксије“

Комисија у саставу:

1. Проф др Зоран Игрутиновић, ванредни професор Медицинског факултета у Крагујевцу, (ужа научна област педијатрија) - председник комисије и потенцијални ментор,
2. Проф др Драган Миловановић, ванредни професор Медицинског факултета у Крагујевцу, (ужа научна област клиничка фармакологија са токсикологијом) -члан
3. Доц др Јован Кошутећ, Медицински факултет у Београду, (ужа научна област педијатрија) – члан,

узимајући у обзир примедбе Комисије за постдипломске студије и научно истраживачки рад, усвојене на седници Изборног већа од 15.04.2009., подноси Изборном већу следећи:

## ИЗВЕШТАЈ

### Биографски подаци

Кандидат мр Александра Симовић испуњава све услове предвиђене Законом о универзитету и Статутом Медицинског факултета, за израду докторске дисертације

#### 1. Лични подаци

Мр Александра Симовић (девојачко Бушетић) рођена је 22.08.1968. год. у Крагујевцу. Гимназију је завршила у Крагујевцу. Дипломирала је на Медицинском факултету у Крагујевцу 24.05.1993. год. са просечном оценом 8,84. Школске 1993/94. године уписала је последипломске студије на Медицинском факултету у Крагујевцу и одслушала наставу на смеру кардиологија.

Одлуком Републичког завода за тржиште рада засновала је 16.06.1995. год. радни однос на одређено време у трајању од 12 месеци на Медицинском факултету у Крагујевцу, као незапослено лице обдарено за научно-истраживачки рад и упућена је у Педијатријску клинику Клиничког центра "Крагујевац" у Крагујевцу, где је 26.12.1995. год. примљена у радни однос на неодређено време на радно место лекара на специјализацији из педијатрије. Специјалистички испит из педијатрије положила је са одличним успехом 29.01.1999. год.

Магистарски рад под насловом: "Значај холтер мониторинга у дијагностици, праћењу и прогнози поремећаја срчаног ритма код деце", под менторством проф др Јасмине Кнежевић, успешно је одбранила 12.07.2004. год. Едуковала се у Универзитетској дечјој клиници у Тиршовој у Београду за самостално тумачење 24 часовног континуираног-Холтер мониторинга ЕКГ-а 2000. године, а у току 2005. год. завршила је тромесечни курс из области дечје ехокардиографије у YU ЕСНО школи.

Запослена је у Центру за неонатологију, Педијатријске клинике у КЦ »Крагујевац« где ради као шеф одсека изолације у Одељењу интензивне неге. Као дечји кардиолог самостално обавља амбулантни рад у оквиру кардиолошке амбуланте, који обухвата ултразвучни преглед и холтер мониторинг.

Удата је и има једно дете. Служи се енглеским и француским језиком.

## **2. Списак радова**

### **2.1 Радови објављени у целини у часопису од међународног значаја:**

1. Simović A, Knežević J: "Importance of continuous ECG monitoring in evaluation of symptoms in children with suspected arrhythmia". Medicus 2004; 5(2): 25-31.

### **2.2 Радови објављени у виду сажетка на конгресима од међународног значаја:**

2. Stojanović N, Vučinić N, Simović A. et al: "Premature retinopathy at the Center for neonatology of the Pediatric Clinic in Kragujevac". First national neonatology days of R. of Macedonia with international participation, September 17-20, 2008. Ohrid, Macedonia, book of abstracts and lectures, 127 page

### **2.3 Радови објављени у виду сажетка на домаћим конгресима**

3. Павићевић М, Вулетић Б, Бушетић А, Павићевић Д., Илић Н, Обрадовић С, Костић Г: "Артеријска хипертензија у деце у периоду од 10 година". III Конгрес педијатара Србије и Црне Горе, Херцег Нови, септембар 2002, зборник радова, 170 стр.
4. Симиновић А, Кнежевић Ј: "Значај субјективних тегоба код деце посматрано из угла процене аритмије", Педијатријски дани Србије и Црне Горе, Ниш, 28-30. септембар 2005, зборник радова

5. Симовић А, Кнежевић Ј: "Корелација палпитације са клинички значајним аритмијама", XV Конгрес удружења кардиолога Србије и Црне Горе, Херцег Нови, Септембар 2005, зборник радова
6. Симовић А, Кнежевић Ј: "Предности и недостаци континуираног ЕКГ мониторинга "ХВИ Конгрес удружења кардиолога Србије и Црне Горе-са међународним учешћем", Београд, 14. до 17. октобар, 2007, зборник радова

## Подаци о предложеној теми

Предложена тема је мултидисциплинарна и веома актуелна. Повезује кардиологију, перинаталну и неонаталну медицину и биохемију.

### 1. Предмет рада

Перинатална асфиксија (ПА) представља један од најчешћих узрока неонаталног морбидитета и mortalитета. **По дефиницији** асфиксија је „стање поремећене размене гасова пре, за време или непосредно после рођења, које ако потраје, изазива прогресивно смањење парцијалног притиска кисеоника, пораст парцијалног притиска угљен диоксида, праћених падом вредности рН крви“ (Амричка академија за педијатрију и Америчко друштво акушера и гинеколога, 1992.; XX симпозијум перинаталне медицине, 2005).

Перинатални индикатори, који се најчешће користе као дијагностички критеријуми ПА су:

- **фетални дистрес**: абнормална срчана радња или меконијална плодова вода, (Carter BS 1998, F.Groenendal и Vries LS, 2000);
- **низак Апгар скор**: <4 у 1.мин. и <7 у 5.мин, (American Academy of Pediatrics, Committee on Fetus and Newborn and American College of Obstetricians and Gynecologists and Committee on Obstetrics Practice, 2006.) и
- **метаболичка ацидоза**: рН из умбиликалне артерије у 1.мин. до 1h <7,0 или 7,1 ; BE >10 или 12mmol/l и ниво лактата >4,8 mmol/l, (Selim M, Shatla HM, 2008., Zupan Simunek V, 2008., Hunt R и др, 2002, Cheung PY и др., 1996).

Постнатални индикатори ПА укључују:

- **неонаталну енцефалопатију**, као есенцијални критеријум за дијагнозу ПА код терминске новорођенчади, најчешће дефинисану комбинацијом Сарнат и ЕЕГ скорa, (Moster и др, 2002., F.Groenendal и Vries LS, 2000.);
- **мултиорганску дисфункцију**: инсуфицијенција 3 или више органа, (Carter BS и др, 1998., Selim M, Shatla HM, 2008.);
- **CRIB скор** ("the clinical risk index for babies): телесна маса на рођењу, гестација, конгениталне малформације, базни ексцес и примена оксигене терапије у првих 12h по рођењу, (Groenendaal F и Vries LS, 2000., Lancet и др., 1993.);

- **абнормалне Doppler flow и “ brain imaging” студије**, (Groenendaal F и Vries LS, 2000.) и

- **биохемијске маркере**: Ц-реактивни протеин, интерлеукин 1, лактати, однос лактати/пирувати, креатин киназу, ЦК-МБ фракцију, срчани тропонин Т и/или И и др., (Castro-Gago M и др, 2006., Adamcova и др., 2003., Trevisanuto и др., 2006, Gaze и Collinson и др., 2006.).

Америчка академија за педијатрију и Америчко друштво акушера и гинеколога и NNPD („National Neonatal Perinatal Database“, 2003.) дефинишу **тешку асфиксију** прогресивном метаболичком ацидозом:  $pH < 6,8$  или  $7,0$ ;  $BE > 15$  mmol/l и ниво лактата  $> 9$  mmol/l, затим одсуством респирација на рођењу или Апгар скором од 0 до 3 у 5.-ом мин. и дуже, применом механичке вентилације, компресије грудног коша и/или вазоактивних лекова, уз мултиорганску дисфункцију и постнаталне неуролошке секвеле (конвулзије  $> 24h$ , хипотонија, кома и сл.).

Последњих година влада велико интересовање за применом **срчаног тропонина И** у процени перинаталне асфиксије и хипоксичне лезије миокарда, а нарочито за рано предвиђање озбиљних последица и евентуалног смртог исхода, код критично оболеле новорођенчади, што је био и основни циљ овог рада.

Исхемија и некроза миокарда среће се код 25-51% новорођене деце, у склопу перинаталне асфиксије. Деловање асфиксије на кардиоваскуларни систем новорођенчета клинички се испољава најчешће у виду транзиторне миокардне исхемије, која углавном има добру прогнозу и не оставља последице. Са друге стране, асфиксија може да доведе до успореног преласка са феталног на неонатални тип циркулације, а у најтежим случајевима до комплетног циркулаторног колапса и тешке конгестивне срчане инсуфицијенције. Крајњи исход зависи како од степена оштећења срчаног мишића, тако и од степена оштећења других виталних органа.

У адултној кардиологији, срчани Тропонини И и Т, као високо сензитивни (96-99%) и специфични (78-88%) маркери миокардне некрозе, користи се као „златни стандард“ хипоксичне лезије и некрозе миокарда. Према ESC/ ACC (The European Society of Cardiology and American College of Cardiology), за брзу дијагнозу акутног инфаркта миокарда препоручена је примена новог високосензитивног (96%) и високоспецифичног (94%) тропонин „assys“-срчани Тропонин И ултра (ТНИУ), који ће бити примењен у овом раду. Према новијим студијама, (Beckman, 2006. и др.), 99-ти перцентил за Тропонин И ултра у здравој адултној популацији износи  $0,04 \mu g/l$ , на хипоксичну лезију миокарда указују вредности од  $0,04$  до  $0,49 \mu g/l$ , а вредности  $> 0,5 \mu g/l$ , на акутни инфаркт миокарда.

Насупрот томе, у перинаталној и неонаталној медицини, још увек не постоји довољан број клиничких студија које користе одређивање Тропонина И у серуму у процени перинаталне асфиксије и хипоксичне лезије миокарда, нити су утврђене њихове референтне вредности.

Средње вредности нивоа ТНИ у серуму код здраве, терминске новорођенчади, ( $> 95$  перцентила), варирају од минимално  $0,01$  до чак  $3,0 \mu g/l$ . Већина студија сугерише, као лимит, концентрацију ТНИ од  $1,8 \mu g/l$ . Овако велике варијације нивоа ТНИ, код здраве, терминске новорођенчади, Trevisanuto и др. аутори објашњавају варирањем временског интервала узимања узорака за анализу, евентуалним присуством

хипербилирубинемиије, хемоллизе, бубрежних обољења, дуготрајном применом токолитика или прееклампсијом мајке.

## 2. Циљеви студије

- Утврдити да ли постоји значајна разлика у серумским концентрацијама Тропонина И и др. стандардних биохемијских маркера (укупне креатин киназе - ЦК, срчане фракције или ЦК-МБ, лактата и Ц-реактивног протеина), између здравог и асфиктичног, рочног новорођенчета.

- Утврдити да ли постоји значајна разлика у серумским концентрацијама Тропонина И код асфиктичног новорођенчета у односу на гестациону старост, телесну масу, Апгар скор у 5.-ом минути, примену механичке вентилације и/или инотропа.

- Упоредити значај биохемијских, електрокардиографских и ехокардиографских маркера у дијагнози хипоксичне лезије миокарда.

- Испитати да ли постоји повезаност раног пораста нивоа Тропонина И са крајњим исходом, код витално угрожене асфиктичне новорођенчади.

## 3. Хипотезе студије

-Тропонин И (ТНИ), као „златни стандард“ за утврђивање некрозе миокарда, може се користити у дијагнози перинаталне хипоксије миокарда.

- Квантитативним одређивањем серумске концентрације ТНИ могуће је прецизније проценити значај асфиксије, у односу на апгар скор, као клинички маркер асфиксије.

-Пораст нивоа ТНИ може бити рани предиктор значајних последица и евентуалног смртног исхода, код интраутерине хипоксије.

## 4. Материјал и методе

Ретроспективно-проспективном клиничком студијом, која ће се обавити у Центру за неонатологију, Педијатријске клинике и породилишту Гинеколошко-акушерске клинике, Клиничког центра у Крагујевцу, анализираће се три групе испитаника:

- група здраве, рочне новорођенчади (телесна маса>2500грама,гестациона старост >37недеља, нормална трудноћа и порођај, Апгар скор>7, без клинички манифестних обољења);

- група рочне, асфиктичне новорођенчади (телесна маса>2500грама, гестациона старост >37недеља, патолошка трудноћа и/или порођај, Апгар скор у првом мин.<4 ; у петом мин.<7, ниво лактата>4,8 mmol/l, са клиничким знацима хипоксично-исхемичне енцефалопатије (ХИЕ) дефинисане по Sarnat and Sarnat скору у три стадијума и

- група превремено рођене, асфиктичне новорођенчади (телесна маса<2500грама,гестациона старост <37недеља, патолошка трудноћа и/или порођај, Апгар скор у првом мин.<4 ; у петом мин.<7, ниво лактата>4,8mmol/l са клиничким и радиографским знацима респираторног дистрес синдрома (РДС) и церебралном леукомалацијом и/или интракранијалном хеморагијом, дијагностикованом помоћу трансфонтанеларне неуросонографије.

Величина узорка је израчуната на основу резултата пилот истраживања у коме су средње вредности и стандардне девијације примарне варијабле, тропонина И, у групи здраве терминске новорођенчади, асфиктичне терминске новорођенчади и асфиктичне превремено рођене новорођенчади биле  $0.0189\pm 0.028$  mcg/L,  $0.183\pm 0.288$  mcg/L и  $0.098\pm 0.16$  mcg/L.

Величина ефекта (E) је израчуната као разлика средњих вредности, а популациона SD према формули  $SD = \sqrt{((SD_1^2 + SD_2^2)/2)}$ . На основу табличних вредности за стандардизовану величину ефекта (E/SD) при  $\alpha = 0.05$  и снази студије 0.8, за однос укључивања према групама 1:1 израчунато је да су потребне величине узорка 26 и 35 у експерименталним групама. На овај начин је укупан студијски узорак утврђен на 105 болесника (по 35 у свакој студијској групи).

#### Лимитирајући фактори овог рада су:

- узимање артеријализоване капиларне крви, као рутинске анализе, у првих 12 часова, постнаталног живота, (у Центар за неонатологију деца се транспортују из удаљених породилишта),
- у току примарне реанимације и/или транспорта деца често примају 8,4% бикарбонате, пре него што се узме узорак за гасне анализе и
- немогућност истовременог одређивања тропонинске фракције Т из техничких разлога, (ова метода се не користи у лабораторији Клиничког центра „Крагујевац“).

Мишљења смо, да због поменутих ограничавајућих фактора, постнатално узете гасне анализе и рН из капиларне артеријализоване крви, не могу бити сигуран дијагностички критеријум ПА. Обзиром да бикарбонати коригују рН крви, али не обавезно и ниво лактата, а у новијим с удијама се често анализира њихов прогностички значај, сигурна дијагноза ПА биће базирана на **лактацидемији** (као „cut off“ вредност лактата за ПА узема се ниво  $>4,8 \text{ mmol/l}$ ), **Апгар скору**, „као златном стандарду“ ПА и следећим постнаталним индикаторима ПА:

- код терминске новорођенчади, на клиничком скору по Сарнату, уз додатну потврду хипоксично-исхемичне енцефалопатије трансфонтанеларном неуросонографијом,
- код превремено рођене деце, на обавезно присутном респираторном дистрес синдрому, који је често удружен са ПА и неуролошким секвелама (церебрална леукомалација и/или интракранијална хеморагија), слично др. постнаталним студијама (Victory R., 2003.).

Према крајњем исходу, посматрано из угла процене прогностичког значаја нивоа тропонина И у серуму, сва асфиктична новорођенчад ће бити подељена у три групе:

- **испитаници са комплетним опоравком**, који нису захтевали кардиореспираторну потпору, изузев оксигене терапије;
- **испитаници који су захтевали кардиореспираторну потпору**: примена конвенционалне механичке вентилације и/или инотропа, са неуролошким поремећајима (конвулзије, хипер или хипотонија, кома и сл.), али без леталног исхода и
- **испитаници са мултиорганском дисфункцијом**, (3 или више инсуфицијентна органа) и **обавезним леталним исходом**, као посебно значајни.

Свим испитаницима ће у серуму бити одређен ниво тропонина И (ТНИ), укупне креатин киназе (ЦК), ЦК-МБ (срчане фракције), ниво лактата и Ц-реактивног протеина (ЦРП), у првих 24-48 часова, по рођењу, а испитаницима са Апгар скором  $<7$  и RTG плућа, Еcho срца, стандардни електрокардиограм и трансфонтанеларна неуросонографија.

Из студије ће бити искључена новорођена деца са урођеним срчаним манама, хромозомским аберацијама или доказаном сепсом.

*Анализиране варијабле у посматраним групама биће:*

- трудноћа (нормална, одржавана токолитицима, ЕПХ гестоза),
- порођај (вагинални, царски рез),
- гестациона старост, порођајна телесна маса, апгар скор у 5. мин.,
- серумска концентрација ТНИ ултра, ЦК, ЦК-МБ фракција, ниво лактата и ЦРП, у првих 24 до 48 часова,
- RTG плућа, ЕКГ, Echo срца и трансфонтанеларна неуросонографија.

## **Статистичка обрада података**

Дистрибуција постнаталног Тропонина И и других стандардних биохемијских маркера, код здраве и асфиктичне новорођенчади, биће приказана у виду средњих вредности са стандардном девијацијом. Статистичка обрада података извршиће се Студентовим (W.S.Gosset) и Фишеровим (Fisher) тестом, а повезаност праћених параметара биће приказана коефицијентом линеарне корелације. Помоћу таблица контингенције биће одређена сензитивност и специфичност ТНИ, са позитивном и негативном предиктивном вредношћу за смртни исход, а „Cut off“ вредности биће одређене помоћу Receiver operating characteristic (ROC) криве.

Добијени резултати биће табеларно и графички приказани.

## **5. Очекивани резултати и значај студије**

У групи рочне, асфиктичне новорођенчади очекује се статистички знатно виши ниво ТНИ, у односу на здраву децу, као и да ће бити најсензитивнији биохемијски маркер перинаталне хипоксије миокарда. Такође, у мањој мери и други стандардни биохемијски маркери (највероватније ЦК-МБ изоензим), електрокардиографски и ехокардиографски маркери хипоксије миокарда биће чешће заступљени, у овој групи испитаника.

У групи превремено рођене, асфиктичне новорођенчади очекује се, такође статистички знатно виши ниво ТНИ, у односу на здраву децу, осим у групи екстремно незреле деце (ТМ<1000 грама и гестационе старости<28 недеља), јер је код ове деце матурација миоцита у току.

У групама новорођене деце која су захтевала примену конвенционалне механичке вентилације и/или инотропа, а нарочито у групи умрле деце, очекује се највећи пораст серумске концентрације ТНИ.

Не очекује се значајнија корелација нивоа ТНИ са апгар скором у 5.-ом мин., гестационом старошћу и телесном масом испитаника, обзиром да је високо ткивно специфичан и сензитиван маркер хипоксичне лезије миокарда.

**Значај ове студије** се управо огледа у могућности примене Тропонина И, као биохемијског маркера, у раном откривању клинички окултне хипоксије миокарда, код критично оболеле новорођенчади. Рани пораст серумске концентрације Тропонина И могао би да допринесе бољој процени асфиксије и ранијем предвиђању могућих последица и смртог исхода. Тиме би рутинско одређивање биохемијских маркера, а нарочито нивоа ТНИ, у јединицама интензивне неонаталне неге, значајно допринело смањењу кардијалног перинаталног морбидитета и морталитета.

## 6. Закључак и предлог комисије

На основу података презентованих у овом извештају Комисија доноси следећи закључак:

- Досадашњим научно-истраживачким радом и публикованим радовима, кандидат др Александра Симовић испуњава све услове за одобрење теме и израду докторске дисертације;
- Предложена тема је по свом садржају, идејама и циљевима веома актуелна и мултидисциплинарна, дизајн студије прецизно постављен и дефинисан, а методологија јасна.
- Комисија сматра да би израда предложене докторске дисертације, анализом ране примене биохемијских маркера, а нарочито Тропонина И, као прогностичког маркера перинаталне асфиксије, дала научни допринос постојећим истраживањима у области неонаталне кардиологије;

Због тога чланови Комисије сматрају да је тема докторске дисертације кандидата др Александре Симовић, под менторством проф др Зорана Игрутиновића, актуелна и научно заснована и са задовољством предлажу Већу ментора, Медицинског факултета Универзитета у Крагујевцу да одобри израду докторске дисертације, под називом:

**„Тропонин И – прогностички маркер перинаталне асфиксије“**

ПРЕДЛОГ МЕНТОРА

За ментора комисија предлаже :

- **Проф. др Зоран Игрутиновић**, ванредни професор Медицинског факултета у Крагујевцу, (ужа научна област: педијатрија)

КОМИСИЈА:

- **Проф. др Зоран Игрутиновић**, ванредни професор Медицинског факултета у Крагујевцу, (ужа научна област: педијатрија) - **председник комисије**,
- **Проф. др Драган Миловановић**, ванредни професор Медицинског факултета у Крагујевцу, (ужа научна област: клиничка фармакологија и токсикологија) - **члан**,
- **Доц. др Јован Кошуткић**, Медицински факултет у Београду, (ужа научна област: педијатрија) - **члан**.