

УНИВЕРЗИТЕТ У КРАГУЈЕВЦУ

ФАКУЛТЕТ МЕДИЦИНСКИХ НАУКА

КРАГУЈЕВАЦ

1. ОДЛУКА НАСТАВНО-НАУЧНОГ ВЕЋА

Одлуком Наставно-научног већа Факултета медицинских наука Универзитета у Крагујевцу, број 01-2798/3-1 од 26.03.2014. године, именовани су чланови комисије за оцену научне заснованости теме докторске дисертације кандидата др мед. Драгана Ђорђевића, под називом:

„ГЕНСКИ ПОЛИМОРФИЗМИ ЦИТОКИНА HIGH MOBILITY GROUP BOX-1 КОД КРИТИЧНО БОЛЕЛИХ ПАЦИЈЕНАТА СА СЕПСОМ И ТРАУМОМ“

На основу одлуке Наставно-научног већа формирана је Комисија у саставу:

- 1. Проф. др Маја Шурбатовић**, редовни професор Медицинског факултета ВМА Универзитета одбране у Београду за ужу научну област Анестезиологија и интензивно лечење, председник
- 2. Проф. др Звонко Магић**, редовни професор Медицинског факултета ВМА Универзитета одбране у Београду за ужу научну област Биологија са хуманом генетиком, члан
- 3. Проф. др Драган Микић**, ванредни професор Медицинског факултета ВМА Универзитета одбране у Београду за ужу научну област Инфективне болести, члан

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

ИЗВЕШТАЈ О ОЦЕНИ НАУЧНЕ ЗАСНОВАНОСТИ ТЕМЕ ДОКТОРСKE ДИСЕРТАЦИЈЕ

Кандидат др мед. Драган Ђорђевић испуњава све услове предвиђене Законом о високом образовању и Статутом Факултета Медицинских наука у Крагујевцу за израду докторске дисертације.

2.1. КРАТКА БИОГРАФИЈА КАНДИДАТА

Асистент др мед Драган Ђорђевић рођен је 24.03. 1966. у Туприји. Медицински факултет Универзитета у Нишу уписао је 1986. године, а дипломирао је 1991. са просечном оценом 8,53. Специјализацију из анестезиологије и реаниматологије је завршио на Војномедицинској академији у Београду 1999. године са одличном оценом. Академске 2007/2008. године је уписао Докторске академске студије на Медицинском факултету Универзитета у Крагујевцу, смер Имунологија, инфекција, инфламација. Положио је све испите предвиђене програмом, као и усмени докторански испит 31. октобра 2009. године са оценом девет (9).

Запослен је на Војномедицинској академији у Београду, као лекар специјалиста анестезиологије и реаниматологије и тренутно је на дужности начелника Одсека за продужени постоперативни надзор, Одељења за интензивну терапију у Клиници за анестезиологију и интензивну терапију ВМА. У марту 2013. године је изабран у звање асистента за ужу научну област Анестезиологија и интензивно лечење на Медицинском факултету ВМА Универзитета одбране у Београду.

Аутор је или коаутор већег броја радова објављених у домаћим и међународним часописима. Учествовао је као предавач на више конгреса и симпозијума из области анестезиологије и интензивне терапије. Члан је председништва Удружења анестезиолога Србије од 2010. године. Члан је Европског удружења анестезиолога (ESA) и Европског удружења интензивне терапије (ЕСЦИМ).

2.2. НАСЛОВ, ПРЕДМЕТ И ХИПОТЕЗЕ ДОКТОРСKE ТЕЗЕ

Наслов: „Генски полиморфизми цитокина High mobility group box-1 код критично оболелих пацијената са сепсом и траумом“

Предмет: У студији ће се утврдити учесталост полиморфизма гена за цитокин HMGB1 и врсте инсулта који активира имунски одговор код критично оболелих пацијената са синдромом системског инфламаторног одговора инфективне или неинфективне етиологије. Анализираће се њихова повезаност са врстом проузроковача инфекције (Грам позитивне, Грам негативне, мешовите бактерије и стерилне хемокултуре) као и са исходом (преживео/умро).

Циљеви:

1. Утврђивање учесталости полиморфизма гена за цитокин HMGB1 код критично оболелих пацијената са SIRS-ом
2. Утврђивање повезаности појединих алелских облика гена за HMGB1 са бактеријским узрочником инфекције
3. Утврђивање повезаности појединих алелских облика гена за HMGB1 са исходом болести

Хипотезе:

1. Постоји повезаност између учесталости алела гена за HMGB1 и врсте инсулта који је довео до SIRS-а код критично оболелих пацијената са бактеријским узрочником инфекције
2. Постоји повезаност између учесталости алела гена за HMGB1 и врсте инсулта који је довео до SIRS-а код критично оболелих пацијената са исходом

2.3. ПОДОБНОСТ КАНДИДАТА

Кандидат др мед. Драган Ђорђевић је као први аутор објавио рад *in extenso* у научном часопису категорије најмање M52 који се објављује на једном од водећих светских језика, чиме је испунио услов за пријаву докторске тезе:

Djordjević D, Surbatović M, Ugrinović D, Radaković S, Jevdjić J, Filipović N, Romić P, Jovanović D. New aspects of sepsis pathophysiology in critically ill. *Vojnosanit Pregl*. 2012 Jan;69(1):58-68. (M23)

Остали радови објављени у научним часописима:

1. Surbatovic M, Veljovic M, Jevdjić J, Popovic N, Djordjević D, Radakovic S. Immunoinflammatory response in critically ill patients: Severe sepsis and/or trauma. *Mediators Inflamm* 2013; 2013:362793 (M21)
2. Surbatovic M, Jevdjić J, Veljovic M, Popovic N, Djordjević D, Radakovic S. Immune response in severe infection: Could life-saving drugs be potentially harmful? *ScientificWorldJournal* 2013; 2013:961852 (M21)
3. Šurbatovic M, Vesić Z, Đordjević D, Radaković S, Zeba S, Jovanović D, Novaković M. Effect of mechanical pressure-controlled ventilation in patients with disturbed respiratory function during laparoscopic cholecystectomy. *Vojnosanit Pregl* 2013; 70(1):9-15 (M23)
4. Šurbatovic M, Vesić Z, Đordjević D, Radaković S, Zeba S, Jovanović D, Novaković M. Hemodynamic stability in total intravenous propofol anesthesia with midazolam coinduction versus general balanced anaesthesia in laparoscopic cholecystectomy. *Vojnosanit pregl* 2012; 69(11):967-72 (M23)
5. Mikić D, Nožić D, Kojić M, Popović S, Hristović D, Rajić-Dimitrijević R, Ćurčić P, Milanović M, Glavatović R, Begović-Kuprešanin V, Veljović M, Đorđević D, Kuljić-Kapulica N, Čekanac R, Stefanović D. Clinical manifestations, therapy and outcome of pandemic influenza A (H1N1) 2009 in hospitalized patients. *Vojnosanit pregl* 2011; 68(3):248-56 (M23)
6. Surbatovic M, Radakovic S, Jevtic M, Filipovic N, Romic P, Popovic N, Jevdjić J, Grujić K, Djordjević D. Predictive value of serum bicarbonate, arterial base deficit/excess and SAPS III score in critically ill patients. *Gen Physiol Biophys* 2009; 28:271-276 (M23)

7. Ђорђевић Д, Марић Н, Ковачевић С, Добросављевић Ж, Рондовић Г, Дамјановић Н. Анестезија и видео-асистирана торакоскопска тимектомија код болесника са мијастенијом гравис. Српски часопис Анестезија и интензивна терапија 2013; 1-2: 85-90 (M52)
8. Ромић П, Удовичић И, Ђорђевић Д. Неинвазивна механичка вентилација у одељењу хируршке интензивне терапије – проспективно клиничко испитивање. Анестезија и интензивна терапија 2004; 27(2):119-26 (M53)

2.4. ПРЕГЛЕД СТАЊА У ПОДРУЧЈУ ИСТРАЖИВАЊА

Имуно-инфламаторни одговор значајно доприноси морбидитету и морталитету код критично оболелих и показује висок ниво интериндивидуалне варијације. Подаци из литературе показују да постоје значајне разлике и у испољавању клиничке слике и у исходу код пацијената са сличним инсултом који је активирао имунски систем (траума и/или инфекција). У фокусу истраживања у новије време нашле су се генске детерминанте инфламаторног одговора а посебно група гена која регулише имунски одговор на трауму и/или инфекцију. Пре више од 25 година Соренсен и сарадници спровели су кључну студију која је обухватила скоро 1000 усвојеника (одвојених од биолошких родитеља). Резултати су показали да постоји значајан утицај наслеђа на повећање ризика од превремене смрти од тешке инфекције. Ако је биолошки родитељ умро од тешке инфекције пре 50.те године живота, постојао је релативни ризик од смрти од исте болести код усвојеника од чак 5.81. Тај релативни ризик је био највећи код тешких инфекција (у односу на друга обољења: цереброваскуларна, кардиоваскуларна где је ризик био између 3 и 4; малигна обољења где је ризик био само 1.19). То значи је да утицај наслеђа код тешких инфекција пет пута већи него код малигну обољења.

Синдром системског инфламаторног одговора (eng. Systemic inflammatory response syndrome- SIRS) може бити изазван инфективним (сепса) или неинфективним (траума) инсултом. Последична мултипла дисфункција органа је главни узрок смрти пацијената лечених у Јединици хирушког интензивног лечења. Нова патофизиолошка теорија о сепси и/или трауми истиче значај раног проинфламаторног одговора и цитокина који могу довести до развоја ране мултипле органске дисфункције и смрти. Такође, важан је и имunosупресивни одговор, који се истовремено одвија, и који може довести до развоја секундарних инфекција, касне мултипле органске дисфункције и смрти.

High mobility group box 1 (HMGB1) је високо конзервирани, нехистонски хромозомски протеин који је присутан у једру и цитоплазми код већине хуманих ћелија. Састоји се од 215 аминокиселина, приближне молекулске масе од 28 кД, и само су два аминокиселинска остатка различита код пацова и човека. HMGB1 има два базна, везујућа ДНК домена – домен А и домен Б, као и јако кисели, репетитивни Ц крај - реп. Овај протеин има важну физиолошку улогу у увијању и транскрипцији молекула ДНК. Истовремено, у стању инфламације, то је и снажни ендогени проинфламаторни цитокин. За разлику од других проинфламаторних цитокина, експерименталне и клиничке студије су показале да HMGB1 има одложену кинетику ослобађања (6-24 сата) у току инфламаторне каскаде у трауми и сепси и познат је као касни цитокин. У одговору на инфекцију или повреду, HMGB1 се може пасивно ослободити из оштећених или некротичних ћелија и/или се може активно секретовати од стране ћелија урођене имуности (моноцити, макрофаге, дендритске ћелије) и ентероцита. Везивањем за специфичне рецепторе (eng.RAGE- Receptor for Advanced Glycation End-products i Toll-like receptors), HMGB1 испољава своја биолошка дејства: привлачење имунских ћелија на место инфекције или повреде, олакшавање препознавања молекулских образаца бактерија преко ћелија урођене имуности, активација ћелија урођене имуности и

ендотелијалних ћелија да продукују бројне проинфламаторне цитокине, хемокине и адхезионе молекуле.

Генски полиморфизми за поједине цитокине, укључене у инфламаторну каскаду, интензивно се провучавају у последњих петнаестак година. Под појмом генског полиморфизма се подразумевају разлике у наследном материјалу у општој популацији, при чему учесталост одређеног алела треба да буде већа од 1%. ДНК полиморфизам се јавља у три главна облика код људи, при чему је најчешћа форма полиморфизама замена појединачних нуклеотида (eng.single nucleotide polymorphism – SNP). Остале две форме чине замена различитог броја узастопних поновака и инсерционо/делециони полиморфизам.

Генска секвенца HMGB1 је локализована на дугом краку хромозома 13, са транскрипционим регионом од приближно 6000 базних парова (бп). Ту су смештени и промотор регион са најмање 1700 бп и 5 егзона са око 2600 бп. Корнблит и сар. су 2007.године детаљно описали 10 варијанти генотипова за цитокин HMGB1, од којих су 6 класификовани као полиморфизми (са фреквенцијом већом од 1% у популацији), а 4 варијанте су класификоване као као мутације.

2.5. ЗНАЧАЈ И ЦИЉ ИСТРАЖИВАЊА СА СТАНОВИШТА АКТУЕЛНОСТИ У ОДРЕЂЕНОЈ НАУЧНОЈ ОБЛАСТИ

Многа савремена истраживања која се баве генетском основом SIRS-а инфективне и неинфективне етиологије усмерена су на испитивање полиморфизма и експресије гена који су укључени у различите фазе имунског одговора на инфекцију и трауму. До сада је више аутора известило о постојању повезаности генског полиморфизма за цитокин HMGB1 са морбидитетом и морталитетом код пацијената са SIRS-ом. Резултати овог истраживања би требало да покажу да ли постоји повезаност генског полиморфизма односно појединих алелских облика гена за цитокин HMGB1 и врсте инсулта који је довео до SIRS-а са врстом бактеријског проузроковача инфекције и исходом код критично оболелих пацијената са сепсом и траумом.

Значај ове студије је у томе да она треба да допринесе даљем расветљавању генске основе имуноинфламаторног одговора организма код критично оболелих пацијената са SIRS-ом различите етиологије. У имунској каскади SIRS-а посебно је значајан утицај проинфламаторних цитокина, међу којима је и HMGB1, који је и предмет проучавања ове студије. Овај цитокин је специфичан по томе што се касно излучује и максималне концентрације достиже након 24 сата од дејства инсулта. Због тога постоји могућност терапијског деловања (терапијски прозор) у смислу супримирања проинфламаторног одговора применом етил-пирувата који блокира секрецију HMGB1 из моноцита. Ова студија ће пратити генски полиморфизм за цитокин HMGB1 код две групе критично оболелих пацијената (сепса, траума). Детекција повезаности одређеног генског полиморфизма са исходом могла би да укаже на групу пацијената са повећаним ризиком од морталитета на самом почетку лечења.

2.6. ВЕЗА СА ДОСАДАШЊИМ ИСТРАЖИВАЊИМА

До сада су објављене две велике студије о повезаности генског полиморфизма за HMGB1 и исхода болести код пацијената са системским инфламаторним одговором и траумом.

Корнблит и сар. су 2008. године урадили прво истраживање о повезаности полиморфизма HMGB1 са исходом болести код пацијената са системским инфламаторним одговором (SIRS). Групу испитаника су чинили 239 пацијената са SIRS-ом, од којих је 176 имало сепсу различите тежине. У овој студији нису наведени етиологија SIRS-а и сепсе, већ је само наведено да су то били интернистички и хирушки пацијенти (хитне хирушке или елективне интервенције). Ови пацијенти су били подељени у 4 групе према тежини клиничке слике, а исход је праћен у два временска интервала: 28. дана и након 48 месеци. Аутори су показали значајну повезаност генотипова rs41369348 (-1377 delAA/-) и (-1377 delA/-) са повећаним дугорочним морталитетом,

који је независан од старости пацијената и од броја испуњених критеријума за SIRS. Такође, они су показали и повезаност полиморфизма на позицији rs1060348 (-982 C>T) у егзону 4 са краткорочним морталитетом и вишим SAPS II скором. У овој студији је мерена и серумска концентрација HMGB1, али није било значајне разлике између преживелих и умрлих.

Зенг и сар. су 2012. године урадили истраживање о повезаности три најчешћа генска полиморфизма за цитокин HMGB1 са ризиком од развоја сепсе и мултипле органске дисфункције код пацијената са тешком траумом у северно-западном делу Кине. Закључили су да је само један генски алел rs2249825 (-3814 C>G) повезан са повећаним ризиком од развоја сепсе и органске дисфункције, док остала два генотипа нису била повезана са током болести код пацијената са тешком траумом.

Такође, објављене су и две студије о полиморфизму HMGB1 које нису директно везане за сепсу, али су везане за инфекцију и то код пацијената са хроничном хепатитис Б вирусном инфекцијом и код пацијената са алогеном трансплантацијом костне сржи.

2.7. МЕТОДЕ ИСТРАЖИВАЊА

А. ВРСТА СТУДИЈЕ

Клиничка опсервациона проспективна студија пресека. Извођење ове студије је одобрено одлуком Етичког одбора ВМА у Београду од 21.06.2012.

Б. ИСПИТАНИЦИ

У студију ће бити укључени критично оболели пацијенти са SIRS-ом различите етиологије (сепса, траума), оба пола, различите старосне структуре, који ће се лечити у Јединици хирушке интензивне терапије, Клинике за анестезиологију и интензивну терапију ВМА Београд.

Пацијенти ће бити подељени у две групе: група СЕПСА и група ТРАУМА.

Групу СЕПСА чиниће пацијенти који испуњавају критеријуме за тешку сепсу, са доказаном интраабдоминалном инфекцијом - перитонитис (подгрупа перитонитис) или са тешким акутним панкреатитисом (подгрупа панкреатитис).

Групу ТРАУМА чиниће пацијенти са тешком траумом, према критеријуму за дефиницију тешке трауме. Према развоју сепсе, испитаници ће даље бити подељени у две подгрупе: тешка траума и тешка траума са секундарном сепсом.

В. УЗОРКОВАЊЕ

Испитаници биће издвојени методом пригодног узорковања од популације критично оболелих пацијената са знацима SIRS-а током лечења у Јединици хирушке интензивне терапије и по добијању писменог пристанка за укључење у студију од стране пацијента/ члана породице.

Општи критеријуми за укључивање пацијената у студију: старост преко 18 година, испуњени клинички и лабораторијски критеријуми за СИРС, пријем у Јединицу хирушке интензивне терапије.

Општи критеријуми за искључивање из студије: тешка леукопенија (< 1,000 mm³), раније тешке болести јетре и бубрега, хематолошке или имунолошке болести.

По укључивању у студију, урадиће се скоровање тих пацијената (APACHE 2 скор, SOFA скор и ISS скор за групу ТРАУМА) и узеће се узорак крви за генске анализе, као и узорци крви за хемокултуру и биохемијске лабораторијске анализе. Регистроваће се основно обољење које је довело до SIRS-а инфективне или неинфективне етиологије: сепса (перитонитис, панкреатитис) и

тешка траума. Према томе пацијенти ће се поделити у 2 групе: група СЕПСА (перитонитис, панкреатитис) и група ТРАУМА (са и без секундарне сепсе).

Исход лечења пацијента (преживео/умро) ће се пратити до завршетка болничког лечења (болнички морталитет).

КРИТЕРИЈУМИ ЗА СИНДРОМ СИСТЕМСКОГ ИНФЛАМАТОРНОГ ОДГОВОРА –SIRS-a

из 1992. године – најмање два или више од следећих елемената:

1. Телесна температура већа 38°C или мања од 36°C
2. Срчана фреквенција >90 удара у минути
3. Фреквенција дисања већа од 20 удисаја у минути или парцијални притисак угљен диоксида у артеријској крви (PaCO₂) мањи од 32 mmHg
4. Поремећен број белих крвних зрнаца (> 12,000/mm³ , < 4,000 mm³ или > 10% незрелих облика

Ове физиолошке промене треба да представљају акутну промену, у одсуству других познатих узрока за такве поремећаје.

КРИТЕРИЈУМИ ЗА СЕПСУ из 2013. године. Критеријуми обухватају документовану или суспектну инфекцију уз присуство неких од следећих параметра:

1. Општи параметри: грозница (>38,3°C) хипотермија (<36°C), тахикардија (>90/мин), тахипнеа, промењено ментално стање, сигнификантни едем или позитивни биланс течности (20 мл/кг у току 24 сата), хипергликемија већа од 120 мг/дЛ или 7,7 ммол/Л у одсуству дијабетеса.

2. Инфламаторни параметри: леукоцитоза (> 12,000/mm³), леукопенија (< 4,000 mm³), нормалан број леукоцита уз присуство >10% незрелих форми, ниво Ц-реактивног протеина (CRP) преко 10 мг/Л, прокалцитонина у плазми преко 1 нг/мЛ.

3. Хемодинамски параметри – артеријска хипотензија (сistolни крвни притисак мањи од 90 mmHg, средњи артеријски притисак мањи од 70 mmHg или пад систолног крвног притиска за више од 40 mmHg).

4. Параметри дисфункције органа: артеријска хипоксемија (PaO₂/FiO₂ < 300), акутна олигурија (диуреза < 0,5мл/кг/сат), ниво креатинина >0,5 мг/дЛ, поремећаји коагулације (ИНР > 1,5 или аПТТ > 60 секунди), тромбоцитопенија (број тромбоцита мањи од 100x10¹²), хипербилирубинемија (укупни билирубин >4 мг/дЛ или 70 μмол/Л)

5. Параметри ткивне перфузије: хиперлактатемија (ниво лактата >1 ммол/Л), продужено капиларно пуњење.

КРИТЕРИЈУМИ ЗА ТЕШКУ ТРАУМУ – према Скору тежине повреда (eng. Injury severity score – ISS) Бејкера и сар.

Повреде тела у 6 региона: глава и врат, лице, грудни кош, трбушна дупља и карлични садржај, спољни омотач тела – бодови од 1 до 5 (1- лака, 2- умерена, 3- средње тешка, 4- тешка и 5- повреда опасна по живот).

Затим се сабирају квадрати највећих бројчаних вредности у три повређена региона тела – максимални износ појединачне повреде 25, максимални збир три доминантне повреде 75

Тешка траума се дефинише као вишеструка (мултипла) повреда са више од 18 бодова.

ПОСТУПАК ГЕНОТИПИЗАЦИЈЕ - крв за анализу ће се узети у првих 24 сата по укључивању пацијента у студију и после добијања писменог пристанка пацијента/ члана породице. Из узорак периферне крви пацијента са SIRS-ом ће се изоловати геномска ДНК по упутствима произвођача комерцијалног кита *Gene JET Genomic DNA Purification Kit* (Fermentas, Germany). Успешност изолације геномске ДНК ће се проверавати 2% агарозном електрофорезом, док ће се концентрација и чистоћа изоловане ДНК одређивати спектрофотометријском методом.

Генотипизација полиморфизама rs2249825, rs4540927, rs1929606, rs17074615, rs1412125, rs1060348, rs1045411 и rs3742305 за HMGB1 ген биће вршена Real-Time PCR metodom (Applied

Biosystems, Foster City, USA) алелском дискриминацијом коришћењем комерцијално доступних есеја: *TaqMan SNPs Genotyping Assay* (Applied Biosystems, Foster City, USA) и *Universal TaqMan MasterMix* (Applied Biosystems, Foster City, USA). Добијени резултати ће бити анализирани уз помоћ софтвера 7500 System SDS (Applied Biosystems, Foster City, USA).

Биће анализирани следећи полиморфизми HMGB1 гена: rs2249825 [C/G], rs4540927 [Г/А], rs19299606 [C/T], rs17074615 [A/C], rs1412125 [T/C], rs1060348 [C/T], rs1045411 [Г/А], rs3742305 [G/C]

Г. ВАРИЈАБЛЕ КОЈЕ СЕ МЕРЕ У СТУДИЈИ

1. Независне варијабле (узроци)

А. Генски полиморфизми односно учесталост појединих генских алела за цитокин HMGB1 код критично оболелих пацијената са SIRS-ом – номинална квалитативна варијабла

Б. Демографске карактеристике пацијента – пол (мушки/женски) – дихотома квалитативна варијабла и старост пацијента – номинална квантитативна варијабла

2. Зависне варијабле (исходи)

А. Врста бактеријског узрочника из налаза хемокултуре (Грам позитивне бактерије, Грам негативне бактерије, мешана бактеријска флора и стерилне хемокултуре) – номинална квалитативна варијабла

Б. Исход лечења (преживео/умро) односно болнички морталитет – дихотома квалитативна варијабла

Д. СНАГА СТУДИЈЕ И ВЕЛИЧИНА УЗОРКА

Основна подела болесника у овој студији биће направљена у односу на инсулт који је довео до SIRS-а код критично оболелих пацијената на две групе (сепса, траума) односно 4 подгрупе (сепса - перитонитис, сепса- панкреатитис, траума, траума са секундарном сепсом). Радна хипотеза је да постоји повезаност између учесталости алела гена за HMGB1 и врсте инсульта који је довео до SIRS-а са врстом бактеријског проузроковача инфекције и исходом код критично оболелих пацијената. Снага студије треба да буде минимално 80% а вероватноћа грешке првог типа ($\alpha = 0,05$). Значајност разлика у учесталости полиморфизма гена утврђиваће се применом χ^2 -теста. Полазећи од претпоставке да ће очекивана учесталост појаве полиморфизма гена бити 30%, произилази да је потребан број испитаника минимално 112. Полиморфизми са учесталошћу мањом од 5% неће бити узети у разматрање. Процена је извршена на основу података неколико генетских студија повезаности које су објављене у водећим међународним часописима и које обрађују сличну тему. Анализа ће бити извршена уз помоћ комерцијално доступног програма GPower 3.1.

Ђ. СТАТИСТИЧКА ОБРАДА ПОДАТАКА

Комплетна статистичка анализа података ће бити извршена је помоћу комерцијалног статистичког софтвера SPSS Statistics 17. Већина варијабли биће представљена у виду фреквенција појединих обележја (категорија), а статистичка значајност разлика провериће се применом χ^2 -теста. У случају континуираних варијабли, подаци ће бити приказани као средња вредност \pm стандардна девијација (СД) а статистичка значајност између група биће процењивана применом t-теста. За процену јачине повезаности ризик фактора и клинички значајних исхода (преживљавање, врста бактеријског проузроковача инфекције) као зависних варијабли, биће коришћена бинарна логистичка регресија. Јачина повезаности појединачних ризик фактора и горе поменутих исхода биће приказана у виду *odds* односа и њихових 95%-них граница поверења. Статистички значајна разлика процењиваће се на минималном нивоу $p < 0,05$.

2.8. ОЧЕКИВАНИ РЕЗУЛТАТИ ДОКТОРСKE ДИСЕРТАЦИЈЕ

У студију ће бити укључени критично оболели пацијенти са SIRS-ом различите етиологије (сепса и траума) и код њих ће се одредити генски полиморфизми за проинфламаторни цитокин HMGB1 односно учесталост појединих алела овог гена. Ова студија треба да покаже да ли постоји повезаност између генског полиморфизма за проинфламаторни цитокин HMGB1 и врсте инсулта (сепса, траума) са бактеријским узрочницима инфекције (изолованих из хемокултуре) и исходом.

2.9. ОКВИРНИ САДРЖАЈ ДИСЕРТАЦИЈЕ

Код критично оболелих пацијената најчешћи стимулус (инсулт) који активира имуно-инфламаторни одговор су инфекција и/или траума. Иmunски одговор је врло сличан, без обзира на стимулус који га је активирао. Нова патофизиолошка теорија о имунском одговору код критично оболелих истиче значај раног проинфламаторног одговора и цитокина који могу довести до развоја ране мултипле органске дисфункције и смрти. Овај одговор је делом генетски детерминисан. Сепса и/или траума и последична мултипла дисфункција органа су најчешћи узрокци смрти у Јединицама хирушког интензивног лечења. Циљ ове студије је да утврди да ли постоји повезаност генског полиморфизма (различити алелски облици истог гена) за проинфламаторни цитокин HMGB1 и врсте инсулта, са бактеријама одговорним за инфекцију (изолованих из хемокултуре) и исходом болести код критично оболелих пацијента.

Истраживање ће се обавити у виду клиничко опсервационе проспективне студија пресека. У студију ће бити укључени критично оболели пацијенти (животно угрожени пацијенти којима је неопходна подршка виталним органима) са сепсом различите етиологије и траумом, оба пола и различите старости. Узорци крви за генске анализе узете се по укључивању пацијента у студију (нулти дан). Пратиће се повезаност генског полиморфизма за HMGB1 и врсте инсулта (основно обољење које је довело до системског инфламаторног одговора- SIRS-а: перитонитис, панкреатитис; траума; траума компликована секундарном сепсом) са врстом бактерија које су одговорне за инфекцију (Грам позитивне, Грам негативне, мешовите бактерије и стерилне хемокултуре) и исходом болести (преживели/умрли) код критично оболелих пацијента.

2.10. ИМЕ МЕНТОРА

Комисија предлаже за ментора ове докторске дисертације **Проф. др Јасну Јевђић**, ванредног професора Факултета медицинских наука Универзитета у Крагујевцу, за ужу научну област Хирургија са анестезиологијом.

2.11. НАУЧНА ОБЛАСТ ДИСЕРТАЦИЈЕ

Медицина. Ужа научна област: Молекулска медицина

2.12. НАУЧНА ОБЛАСТ ЧЛАНОВА КОМИСИЈЕ

1. **Проф. др Маја Шурбатовић**, редовни професор Медицинског факултета ВМА Универзитета одбране у Београду за ужу научну област Анестезиологија и интензивно лечење, председник
2. **Проф. др Звонко Магић**, редовни професор Медицинског факултета ВМА Универзитета одбране у Београду за ужу научну област Биологија са хуманом генетиком, члан
3. **Проф. др Драган Микић**, ванредни професор Медицинског факултета ВМА Универзитета одбране у Београду за ужу научну област Инфективне болести, члан

ЗАКЉУЧАК И ПРЕДЛОГ КОМИСИЈЕ

1. На основу досадашњег научног рада и публикованих радова др мед. Драган Ђорђевић испуњава све услове прописане Статутом Факултета медицинских наука Универзитета у Крагујевцу и Законом о високом образовању за одобрење теме и израду докторске дисертације.
2. Предложена тема је научно оправдана и оригинална, дизајн истраживања прецизно постављен, а научна методологија јасна и прецизна.
3. Комисија сматра да ће предложена докторска теза бити од научног значаја у проналажењу повезаности генског полиморфизма за проинфламаторни цитокин HMGB1 и врсте инсулта (сепса, траума) са бактеријама одговорним за инфекцију (изолованих из хемокултуре) и исходом болести код критично оболелих пацијента.

4. Комисија предлаже Наставно-научном већу Факултета медицинских наука Универзитета у Крагујевцу да прихвати пријаву теме докторске дисертације кандидата др мед. Драгана Ђорђевића под називом „Генски полиморфизми цитокина **High mobility group box-1** код критично оболелих пацијената са сепсом и траумом“ и одобри њену израду.

ЧЛАНОВИ КОМИСИЈЕ

1. Проф. др Маја Шурбатовић, редовни професор Медицинског факултета ВМА Универзитета одбране у Београду за ужу научну област Анестезиологија и интензивно лечење, председник

2. Проф. др Звонко Магић, редовни професор Медицинског факултета ВМА Универзитета одбране у Београду за ужу научну област Биологија са хуманом генетиком, члан

3. Проф. др Драган Микић, ванредни професор Медицинског факултета ВМА Универзитета одбране у Београду за ужу научну област Инфективне болести, члан

Крагујевац,

23.04.2014. године

