

ПРИМЉЕНО:	28. 12. 17
Организација:	Факултет
Број:	05 15885/6-6

**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-03-1032/17 од 08.11.2017. године, именовани су чланови комисије за оцену научне заснованости теме докторске дисертације кандидата Драгане Алексић под називом:

„Концентрација азот монооксида, малондиалдехида и глутатиона у носном секрету деце склоне акутном запаљењу средњег ува”

Чланови комисије су:

1. **Проф. др Драган Миловановић**, редовни професор Факултета медицинских наука Универзитета у Крагујевцу за ужу научну област Фармакологија и токсикологија, председник
2. **Доц. др Иван Срејовић**, доцент Факултета медицинских наука Универзитета у Крагујевцу за ужу научну област Физиологија, члан
3. **Доц. др Александар Перић**, доцент Медицинског факултета Војномедицинске академије Универзитета одбране у Београду за ужу научну област Оториноларингологија, члан

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

2. Извештај о оцени научне засноваости теме докторске дисертације

Кандидат Драгана Алексић испуњава све формалне услове предвиђене Законом о високом образовању и Статутом Факултета медицинских наука у Крагујевцу за пријаву докторске дисертације.

2.1. Кратка биографија кандидата

Драгана Алексић, специјалиста фармацеутске технологије, рођена је 13.06.1973. године у Брчком, Босна и Херцеговина, где је похађала основну и средњу школу. Фармацеутски факултет у Београду завршила је 1999. године, а специјализацију из Фармацеутске технологије 2006. године.

Наслов теме специјалистичког рада био је “Израда и испитивање раствора за перфузију и презервацију органа при трансплантацији“. Од 2006. Године до данас ради у Сектору за фармацију ВМА као фармацеут специјалиста на Одељењу за фармацеутску технологију у лабораторији за израду стерилних препарата. Похађала је *ESPEN* експертски курс о *GPP* у изради мешавина за тоталну парентералну исхрану. Члан је Фармацеутске коморе Србије и Фармацеутског друштва Србије.

Током професионалне каријере била је аутор или коаутор више научних радова који су објављени у домаћим и страним часописима са *SCI* листе.

2.2. Наслов, предмет и хипотезе докторске тезе

Наслов: „Концентрација азот монооксида, малондиалдехида и глутатиона у носном секрету деце склоне акутном запаљењу средњег ува“

Предмет: Упоредна анализа параметара оксидативног стреса у узорцима носног секрета код деце склоне акутном запаљењу средњег ува и код здраве деце.

Хипотезе:

- Код деце склоне акутом запаљењу средњег ува вредности испитиваних параметара редокс статуса (азот монооксид, малондиалдехид и глутатион) у узорцима носног секрета се значајно разликују у односу на здраву децу;
- Узраст деце, пол, претходне респираторне инфекције, претходно пласиране аерационе цевчице, боравак у колективу, вештачка исхрана и дохрана и изложеност дувану значајно утичу на ниво вредности испитиваних параметара у групи деце склоне акутном запаљењу средњег ува у односу на здраву децу.

2.3. Испуњеност услова за пријаву теме докторске дисертације

Кандидат је објавио рад у целини као први аутор на енглеском језику у часопису категорије M52, чиме је испунио услов за пријаву докторске тезе:

1. **Aleksić D, Vojvodić D, Antunović M, Putić V, Mirković D.** The role of oxidative stress in the onset of acute otitis media in children. *MD-Medical Data* 2016; 8(2): 105-108. M52

2.4. Преглед стања у подручју истраживања

Акутно запаљење средњег ува (акутни отитис медија - АОМ) и секреторно запаљење средњег ува представљају једне од најчешћих поремећаја здравља у детињству. Доказано је да између 50% и 85% деце доживи најмање једну епизоду АОМ до треће године живота уз највећу инциденцу у узрасту између 6-ог и 15-ог месеца. Посебно се издвајају „деца склона АОМ“, код које се уочава склоност ка понављаним инфекцијама средњег ува. До сада познати епидемиолошки подаци показују да чак до 19% деце има четири и више епизода АОМ годишње, или шест и више епизода АОМ до навршене седме године живота. Патогенеза АОМ је комплексна и мултифакторска, а испољава се у облику акутне епизоде која је праћена оталгијом, повишеном телесном температуром и лошим општим стањем детета.

И поред дугогодишњег истраживачког рада у овој области, остало је недовољно разјашњено због чега нека деца имају понављане епизоде акутне упале средњег ува, а друга немају иако деле готово исту животну средину. Многобројни фактори ризика помињу се као могући чиниоци склоности деце ка АОМ: недовољно сазрео имунски одговор, анатомска предиспозиција због положаја Еустахијеве тубе, узраст млађи од 5 година, мушки пол, бела раса, телесна маса мања од 2,5 kg, деца рођена пре 37. гестацијске недеље, коришћење анатомске варалице, деца рођена у пролећном и летњем периоду, изостанак дојења, боравак у колективном смештају, нижи социоекономски положај породица, нижи образовни ниво родитеља, пасивна изложеност дуванском диму, породична склоност упалама ува, генетска предиспозиција, већи број деце у породици.

Одавно је позната улога оксидативног стреса (ОС) у настанку многих обољења. Оксидативни стрес подразумева прекомерно стварање, односно неадекватно елиминисање реактивних врста или слободних радикала што за последицу има оштећење биомолекула, ћелијских структура и смрти саме ћелије. Ова једињења која се деле на реактивне кисеоничне и азотне врсте непрестано се стварају у организму и у ниским концентрацијама имају физиолошку функцију, док у високим концентрацијама делују штетно.

Слободни кисеонични радикали су неопходни за имунолошке реакције и метаболичку активност. Одбрамбене ћелије у организму, као што су неутрофили, моноцити и макрофаги, производе слободне кисеоничне радикале током активације имунских процеса. Међутим, њихова прекомерна производња узрокује ткивна оштећења; на тај начин се отежава нормалан опоравак ткива и организма у целиви и продужава се трајање инфламације. У самој ћелији најосетљивија места деловања су ћелијска мембрана и ћелијске органеле због високог садржаја полинезасићених масних киселина, где започиње реакција оксидативног оштећења односно липидна пероксидација.

Заштитни систем који делује протективно тако што спречава токсичне ефекте слободних кисеоничних радикала на ћелије и одржава хомеостазу назива се антиоксидативни систем (АОС) и дели се на ензимски (супероксидна димутаза - *SOD*, глутатион редуктаза - *GHRx*, и каталаза - *CAT* др.) и неензимски (глутатион - *GSH*, металотионеин, витамини Е и С, коензим Q, уреа, албумин и др.). Важно је нагласити да, поред протективне, АОС има и ренаративну улогу. Антиоксиданси су супстанце које спречавају дејство слободних кисеоничних радикала на ћелије и обезбеђују оксидативну равнотежу. Велики значај имају прооксиданси (азот моноксид - *NO*, малондиалдехид - *MDA*), супстанце које индукују оксидативни стрес било стварањем слободних кисеоничних радикала, било инхибирањем антиоксидативних система.

2.5. Значај и циљ истраживања

Значај студије: Значај студије је у томе што би се на основу ових неинвазивних анализа из носног секрета могла веома рано поставити дијагноза код деце која имају склоност ка акутном запаљењу средњег ува, што даље отвара могућност ране превенције, модификације фактора ризика и оптималнији терапијски приступ.

Циљеви студије су: Анализирати и упоредити параметре оксидативног статуса (азот моноксид, малондиалдехид и глутатион) у узорцима носног секрета код деце склоне акутном запаљењу средњег ува и у контролној групи здраве деце у односу на: узраст и пол, постојање респираторних инфекција, пласирање аерационих цевчица, алергијске реакције, исхрану и дојење, боравак у колективу, изложеност дуванском диму, наследне склоности.

2.6. Веза истраживања са досадашњим истраживањима

До сада спроведена истраживања базирала су се на одређивању биолошких маркера оксидативног стреса из узорака крви, урина, ткива и других телесних течности. Коришћење узорка из носног секрета и одређивање редокс статуса код деце склоне акутном запаљењу средњег ува, далеко је једноставније и приступачније на свим нивоима здравствене заштите. Измењене вредности параметара редокс система могу указати на одређени статус инфламације, неадекватан имунски одговор, постојање општећења на ћелијском нивоу, а самим тим бити један од кључних параметара за доказивање претпоставке о понављању епизода АОМ и даље диференцирање обољења средњег ува.

2.7. Методе истраживања

2.7.1. Врста студије

Истраживање ће бити спроведено као клиничка, делом проспективна, делом ретроспективна опсервациона студија пресека код деце склоне акутном запаљењу средњег ува. Контролну групу чине здрава деца. Ретроспективна анализа би обухватила све социодемографске и клиничке податке, док би проспективно била урађена анализа параметара редокс статуса из узорака носног секрета деце. За ово испитивање добијена је сагласност Етичког одбора Војномедицинске академије у Београду.

2.7.2. Популација која се истражује

Испитивану популацију би чинила деца која показују склоности акутном запаљењу средњег ува на основу анамнестичких и клиничких података, док би контролну групу чинила здрава деца старијег узраста без прележаних акутних запаљења средњег ува што ће се утврдити на основу анамнезе и клинички релевантних података из здравствених картона. Комплетно испитивање било би спроведено у Клиници за оториноларингологију, Дечијем диспанзеру и Институту за медицинска истраживања Војномедицинске академије у Београду.

2.7.3. Узорковање

Пацијенти ће бити регрутовани по типу згодног узорка, односно сва доступна деца која се јаве у амбуланту ВМА због неког прегледа биће укључена у студију на основу унапред дефинисаних критеријума. У анализу ће бити укључена сва деца која испуне критеријуме укључења и искључења. Свим испитаницима АОМ групе и контролне групе, након попуњеног упитника и ОРЛ прегледа, уз сагласност родитеља, узимаће се узорак носног секрета. Узорак носног секрета узима се стандардним стерилним штапићем за брис, који ће се након тога потопити у епрувету са 1000 μL стерилног физиолошког раствора и уклонити после 30 минута дилуирања на собној температури. По уклањању штапића узорци дилуираног носног секрета биће чувани на температури од -20°C до тестирања. Из одмрзнутих узорака дилуираног носног секрета у центрифугирањем одвојеном супернатанту одређиваће се детектабилност и концентрација вредности параметара редокс статуса (азот моноксид, малондиалдехид и глутатион).

Група случајева:

Критеријуми за укључивање: деца узраста 1 до 7 година која имају склоност акутном запаљењу средњег ува су она која имају: \geq три епизоде унутар шест месеци, \geq четири епизоде у периоду од годину дана, шест или више епизода акутног запаљења средњег ува до навршених седам година живота, прва епизода акутног запаљења средњег ува до навршеног шестог месеца живота и пласиране вентилационе цевчице код деце са запаљењем средњег ува са ефузијом; број епизода упала средњег ува ће бити узет из историја болести и здравствених картона, на основу чега ће бити подељена деца да ли имају склоност или не акутним упалама средњег ува; упала средњег ува ће бити потврђена на основу ОРЛ прегледа.

Критеријуми за искључивање: други коморбидитети (друга респираторна обољења, срчане болести и друга обољења од значаја); операција трећег крајника и упале средњег ува; хронична терапија; старија деца од 7 година и млађа од годину дана; деца са посебним потребама.

Контролна група:

Критеријуми за укључивање: деца узраста од 7 до 15 година која немају склоност акутном запаљењу средњег ува, а то су деца која нису имала: \geq три епизоде унутар шест месеци, \geq четири епизоде у периоду од годину дана, шест или више епизода акутног запаљења средњег ува до навршених седам година живота, прва епизода акутног запаљења средњег ува до навршеног шестог месеца живота и пласиране вентилационе цевчице због запаљења средњег ува са ефузијом; број епизода упала средњег ува ће бити узет из историја болести и здравствених картона, на основу чега ће бити подељена деца да ли имају склоност или не акутним упалама средњег ува

Критеријуми за искључивање: други коморбидитети; операција трећег крајника и упале средњег ува; хронична терапија; деца млађа од 7 година и старија од 15 година; деца са посебним потребама.

2.7.4. Варијабле које се мере у студији

У студији ће се анализирати параметри редокс статуса, зависне варијабле - азот моноксид, малондиалдехид и глутатион код групе деце склоне акутном запаљењу средњег ува и у контролној групи здраве деце у узорцима носног секрета. Добијене вредности ће бити анализирани у односу на следеће независне варијабле: старост и пол деце, претходне респираторне инфекције, пласиране аерационе цевчице, постојање алергијских реакција, исхрану и дојење, боравак у колективу, изложеност дуванском диму и наследној склоности акутном запаљењу средњег ува.

Узорци за анализу параметара редокс статуса деце ће бити узимани из носног секрета. У узорцима носног секрета спектрофотометријском методом биће одређивани следећи параметри: а) прооксидативни параметри, азот моноксид (NO) и индекс липидне пероксидације, реактивне супстанце тиобарбитуратне киселине (TBARS) и б) параметар ендогене антиоксидативне заштите, редуковани глутатион (GSH).

2.7.5. Снага студије и величина узорка

На основу стандардних статистичких параметара (снага студије - 0,80; вероватноћа α грешке-0,05; двострано тестирање; једнаке величине група) да би се пронашла значајна разлика у вредностима редукованог глутатиона између групе са акутним запаљењем средњег ува и контролне групе, при чему је према литератури ниво глутатиона код акутног запаљења

средњег уха $29,26 \pm 1,18$ mg/dl, односно код контролне групе $34,38 \pm 1,41$ mg/dl (4), добијена величина ефекта 3,9381703.

Израчуната је потребна величина узорка t тестом за независне узорке, користећи рачунарски програм G*Power 3.1, од укупно 3 пацијената по групи. Међутим, у студији се планира да се укључи по 50 пацијената по групи.

2.7.6. Статистичка обрада података

Статистичка анализа података биће урађена у компјутерском статистичком програму *PASW Statistics version 18*. Све категоријалне варијабле биће приказане у облику апсолутних и релативних бројева, док ће непрекидне варијабле бити приказане у облику средње вредности \pm стандардна девијација (SD), медијане (Мед) \pm стандардне грешке (SE) и распона [најмања вредност (Мин) - највећа вредност (Макс)]. Повезаност ће бити процењивана уз помоћ корелације, док ће значајност разлике бити испитивана одговарајућим статистичким тестовима, у зависности да ли се ради о нормалној расподели или расподели која није испунила услове за нормалност, што ће бити процењено уз помоћ *Kolmogorov-Smirnov* теста. Предвиђено је коришћење следећих тестова, сходно природи и дистрибуцији прикупљених података: *Chi-square* тест, *Mann-Whitney* тест, *Kruskal-Wallis* тест, *Spearman's rho* коефицијент корелације ранга (*Spearman's rank-order correlation*), *Pearson's* корелација и мултипла линеарна регресија. Све статистичке анализе рађене биће рађене на ниво статистичке значајности $p \leq 0.05$. Након урађене анализе, сви резултати ће бити приказани табеларно и графички.

2.8. Очекивани резултати докторске дисертације

Очекује се да се код деце склоне акутом запаљењу средњег уха вредности параметара редокс статуса (азот моноксид, малондиалдехид и глутатион) у узорцима носног секрета значајно разликују у односу на здраву децу. Такође се очекује да старост деце, мушки пол, претходне респираторне инфекције, претходно пласиране аерационе цевчице, боравак у колективу, вештачка исхрана и дохрана и изложеност дуванском диму значајно утичу на ниво испитиваних параметра у групи деце склоне акутном запаљењу средњег уха у односу на контролну групу здраве деце.

2.9. Оквирни садржај дисертације

Главни значај ове студије за праксу огледа се у томе што би се на основу једноставног и неинвазивног метода узимања носног секрета могао одредити редокс статус деце склоне акутном запаљењу средњег уха. Тако би се значајно могли унапредити протоколи лечења, јер би се преко ових једноставних анализа могла веома рано поставити дијагноза код деце која имају склоност ка акутном запаљењу средњег уха, што даље отвара могућност ране превенције, модификације фактора ризика и бољи терапијски третман овог обољења.

3. Предлог ментора

За ментора се предлаже проф. др Слободан Јанковић, редовни професор Факултета медицинских наука Универзитета у Крагујевцу за ужу научну област Фармакологија и токсикологија и Клиничка фармација.

Предложени наставник, проф. др Слободан Јанковић, 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

Проф. др Слободан Јанковић је на листи ментора Факултета медицинских наука Универзитета у Крагујевцу, до сада је објавио 132 рада у целини у часописима индексираним на SCI листи и учесник је или руководиоца 15 научно-истраживачких пројеката. Проф. др Слободан Јанковић испуњава услове за ментора докторских дисертација, у складу са стандардом 9. за акредитацију студијских програма докторских академских студија на високошколским установама. Списак одабраних публикованих радова проф. др Слободана Јанковића је следећи:

1. Djordjevic N, Carrillo JA, Gervasini G, Jankovic S, Aklillu E. In vivo evaluation of CYP2A6 and xanthine oxidase enzyme activities in the Serbian population. *Eur J Clin Pharmacol* 2010; 66(6): 571-8.
2. Zornic N, Radojevic DJ, Jankovic S, Djuric D, Varjadic M, Simic VD, Milovanovic DR. Monitoring of drug-associated electrolyte disturbances in a hospital. *Pharmacoepidemiol Drug Saf* 2009; 18(11): 1026-33.
3. Novokmet S, Jakovljevic VLj, Jankovic S, Davidovic G, Andjelkovic N, Milanovic Z, Djuric DM. Human platelets perfusion through isolated guinea-pig heart: the effects on coronary flow and oxidative stress markers. *Gen Physiol Biophys* 2009; 28 Spec No:98-104.
4. Folić N, Folić M, Marković S, Andjelković M, Janković S. Risk factors for the development of metabolic syndrome in obese children and adolescents. *Srp Arh Celok Lek* 2015; 143(3-4): 146-52.
5. Tomovic MT, Cupara SM, Popovic-Milenkovic MT, Ljubic BT, Kostic MJ, Jankovic SM. Antioxidant and anti-inflammatory activity of *Potentilla reptans* L. *Acta Pol Pharm* 2015; 72(1): 137-45.

4. Научна област дисертације

Медицина. Ужа област: Експериментална и клиничка фармакологија.

5. Научна област чланова комисије

1. Проф. др Драган Миловановић, редовни професор Факултета медицинских наука Универзитета у Крагујевцу за ужу научну област Фармакологија и токсикологија, председник;
2. Доц. др Иван Срејовић, доцент Факултета медицинских наука Универзитета у Крагујевцу за ужу научну област Физиологија, члан;
3. Доц. др Александар Перић, доцент Медицинског факултета Војномедицинске академије Универзитета одбране у Београду за ужу научну област Оториноларингологија, члан.

Закључак и предлог комисије

На основу увида у резултате досадашње научно-истраживачке активности и публикованих радова, комисија закључује да кандидат **Драгана Алексић** поседује одговарајуће компетенције и да испуњава све услове да приступи изради докторске дисертације.

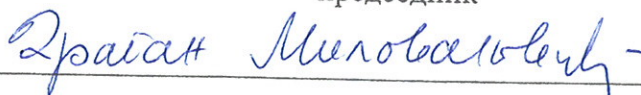
Предложена тема је научно оправдана, дизајн истраживања је прецизно постављен и ефинисан, методологија је јасна. Ради се о оригиналном научном делу, где се упоредно анализају социо-демографски, клинички и параметари оксидативног стреса код деце склоне акутном запаљењу средњег уха и код здраве деце.

Комисија сматра да ће предложена докторска теза **Драгане Алексић** бити од великог научног и практичног значаја.

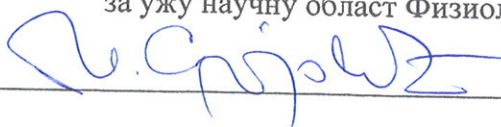
Комисија предлаже Наставно-научном већу Факултета медицинских наука Универзитета у Крагујевцу да прихвати пријаву теме докторске дисертације кандидата **Драгане Алексић** под називом: „**Концентрација азот монооксида, малондиалдехида и глутатиона у носном секрету деце склоне акутном запаљењу средњег уха**” и да, под менторством проф. др Слободана Јанковића, одобри њену израду.

ЧЛАНОВИ КОМИСИЈЕ

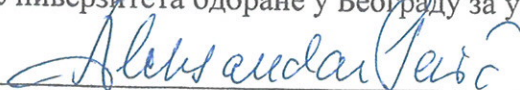
Проф. др Драган Миловановић, редовни професор Факултета медицинских наука Универзитета у Крагујевцу за ужу научну област Фармакологија и токсикологија, председник



Доц. др Иван Срејовић, доцент Факултета медицинских наука Универзитета у Крагујевцу за ужу научну област Физиологија, члан



Доц. др Александар Перић, доцент Медицинског факултета Војномедицинске академије Универзитета одбране у Београду за ужу научну област Оториноларингологија, члан



У Крагујевцу, 28.11.2017.