

05	15403/1-1	05.12.19
----	-----------	----------

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-03-754/12 од 02.10.2019. године, именовани су чланови комисије за оцену научне заснованости теме докторске дисертације кандидата **Јасне Петровић** под називом:

“Повезаност вредности прокалцитонина и параметара оксидационог стреса код пацијената са сепсом“

На основу одлуке Већа за медицинске науке, формирана је комисија у саставу:

1. **Проф. др Маја Шурбатовић**, редовни професор Медицинског факултета Војномедицинске академије Универзитета одбране у Београду за ужу научну област *Анестезиологија и интезивно лечење*, председник;
2. **Доц. др Александар Цветковић**, доцент Факултета медицинских наука Универзитета у Крагујевцу за ужу научну област *Хирургија*, члан;
3. **Доц. др Исидора Милосављевић**, доцент Факултета медицинских наука Универзитета у Крагујевцу за ужу научну област *Фармацеутска биотехнологија*, члан.

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

ИЗВЕШТАЈ

Кандидат **Јасна Петровић** испуњава све услове предвиђене Законом о високом образовању и Статутом Факултета медицинских наука Универзитета у Крагујевцу за израду докторске дисертације.

2.1. Кратка биографија кандидата

Др Јасна Петровић је рођена 23.07.1974. у Ваљеву. Основну и Средњу медицинску школу завршила је у Ваљеву. Медицински факултет Универзитета у Београду уписала је 1993/94 године а завршила је 2002. Године. Од 2002. Године је запослена у служби Анестетије, реанимације и интензивне неге, Опште болнице Ваљево.

Специјализацију из Анестезиологије и реаниматологије завршила је 2010. године на Клиници за анестезиологију и интензивну терапију Војномедицинске академије у Београду са оценом 5.

Школске 2010/11. године уписала је докторске академске студије на Факултету медицинских наука Универзитета у Крагујевцу, изборно подручје Експериментална и примењена физиологија са спортском медицином. Усмени докторски испит је положила 2011. године са оценом 10. Удата је и мајка двоје деце.

2.2. Наслов, предмет и хипотезе докторске тезе

Наслов: „Повезаност вредности прокалцитонина и параметара оксидационог стреса код пацијената са сепсом“

Предмет: Испитивање повезаности вредности прокалцитонина и параметара оксидационог стреса код пацијената са сепсом.

Хипотезе:

- Очекује се да постоји позитивна корелација између нивоа прокалцитонина и бар једног од параметара из групе прооксиданаса.
- Очекује се да постоји негативна корелација између нивоа прокалцитонина и бар неког од антиоксиданаса.
- Очекује се да постоји корелација између нивоа прокалцитонина, оксидационог стреса и тежине органске дисфункције (*SOPA score*).

- Очекује се да постоји корелација између нивоа прокалцитонина, оксидационог стреса и морталитета.

2.3. Испуњеност услова за пријаву теме докторске дисертације

Кандидат, Јасна Петровић, је објавила рад у целини у часопису категорије M51, у коме је први аутор, чиме је стекла услов за пријаву теме докторске дисертације.

1. Petrovic J, Jevdjic J, Jakovljevic V. C reactive protein and procalcitonine as diagnostic markers in critically ill patients with suspected sepsis. *Serb J Exp Clin Res.* 2019. DOI: 10.2478/sjecr-2019-0042. **M51**

2.4. Преглед стања у подручју истраживања

Сепса представља глобални здравствени проблем. Поред комплексне савремене терапије и даље је један од водећих узрока смртност код критично оболелих пацијената. На Трећем интернационалном консензусу о дефиницији сепсе и септичног шока из 2016. године постављен је консензус за дефинисање и терапију сепсе (*Sepsis-3*). Нова класификација подразумева поделу на сепсу и септични шок. Сепса је дефинисана као животно угрожавајућа органска дисфункција узрокована неконтролисаним одговором организма на инфекцију. Септични шок претставља подврсту сепсе коју карактерише продубљена циркулаторна, ћелијска и метаболичка дисфункција и која носи већи ризик од смртог исхода него сама сепса. Клиничке карактеристике болесника у септичном шоку су немогућност одржавање средњег артеријског притиска (*Mean Arterial Blood Pressure - MAP*) > од 65mmHg без вазопресора у условима нормоволемије као и ниво серумских лактата > од 2mmol/L.

У току развоја сепсе долази до поремећаја физиолошких функција међузависних органа која може варирати од благог степена поремећене функције до потпуног, неповратног отказивања органа и означава се као вишеструка органска дисфункција (*Multiple Organ Dysfunction Syndrome – MODS*). Процена тежине стања органске дисфункције и исхода лечења прати се преко SOFA скорa (*SOFA score “Sepsis-Related Organ Failure Assessment”*). Процењује се функција респираторног система, коагулациони статус, функција јетре, уринарног система, стање свести, хемодинамски параметри.

Системи се бодују од 1-4 (0 је физиолошко стање) укупан скор може имати од 6-24 бода. Позитивним се сматра повећање > 2 параметра.

Патофизиолошка дешавања током сепсе су комплексна. За циљ имају елиминацију патогена и враћање одговора организма у стање хомеостазе. Без обзира на природу примарног инсульта (инфекција, траума и др.) покреће се реакција организма активирањем имунских целија. Оне индукују синтезу про- и/ или антиинфламаторних цитокина који узрокују секундарне ендокрине промене у организму. Комбинација инфламације и ендокриних промена смањују синтезу енергије у ћелији нарушавајући процес оксидативне фосфорилације у митохондријама. Снижен ћелијски метаболизам је један од главних разлога *MODS-a*. Претпоставља се да инфекција (било да је лабораторијски/микробиолошки доказана или не) игра битну улогу у току сепсе.

У стимулисаном ткивима долази до инфилтрације полиморфонуклеарним леукоцитима и активирања моноцитно/макрофагног система. Ова активација доводи до повећане приоизводње реактивних кисеоничних радикала (*Reactive Oxygen Species - ROS*), као и реактивних азотних радикала (*Reactive Nitrogen Species - ROS*). Сепса је стање у ком се стварају велике количине азот-моноксида (*Nitric Oxide - NO*) који има директан инхибиторни ефекат на респираторни ланац митохондрија и њихово физичко оштећење узрокујући митохондријску и ендотелну дисфункцију која погоршава *MODS*. Поред тога, истраживања указују на улогу одложене неутрофилне апоптозе и продужене неутрофилне реакције у неконтролисаном одговору организма на инфекцију.

2.5. Значај и циљ истраживања

Имајући у виду значај сепсе у погледу броја оболелих, као и исхода болести, ово истраживање требало би да омогући боље сагледавање повезаности између SOFA збира, параметара оксидационог стреса и прокалцитонина.

Циљеви истраживања подразумевају:

1. Утврдити да ли има корелације између вредности SOFA збира и параметара оксидационог стреса (прооксиданаса/ антиоксиданаса)
2. Испитати степен повезаности нивоа прокалцитонина и параметара оксидационог стреса:
 - а. Корелацију између нивоа прооксиданаса и нивоа прокалцитонина,

- b. Корелацију између нивоа антиоксиданаса и нивоа прокалцитонина;
3. Испитати корелацију параметара оксидационог стреса (прооксиданси/антиоксиданси) и морталитета.

2.6. Веза истраживања са досадашњим истраживањима

Раније студије, како експерименталне тако и клиничке, показале су да током сепсе постоји повећана концентрација прооксиданаса и смањење антиоксидативне заштите. Потврђено је и да пацијенти са тешком сепсом имају виши ниво прооксиданаса од пацијената из групе са сепсом.

Рано постављање дијагнозе сепсе и благовремено укључивање антибиотске терапије су значајни за исход лечења пацијената оболелих од сепсе и септичног шока. За рану потврду инфекције и оштећења ткива у сепси данас су у употреби различити биомаркери: С-реактивни протеин, ниво леукоцита, ниво лактата, прокалцитонин (*Procalcitonine* - *PCT*). Према препорукама водича за лечење сепсе из 2012. године прокалцитонин је предложен као један од биомаркера који је користан као водич за укључивање антибиотске терапије, праћење ефекта и њено трајање. Концентрација *PCT* детектује већ након 2-4 сата од почетка инсульта. Највише вредности су у првих 6-24 сата и остају повишене у наредних 7 дана.

Ипак, у доступној литератури мало је података о корелацији прокалцитонина и параметара оксидационог стреса. На основу улоге оксидационог стреса у патофизиолошким механизмима сепсе, односно значаја *PCT* као клинички примењивог биомаркера за рану детекцију покретања инфламаторног одговора сматрамо да би било од интереса испитати корелацију између нивоа *PCT* и параметара оксидационог стреса (прооксиданаса и антиоксиданаса) код пацијената са сепсом.

2.7. Методе истраживања

2.7.1. Врста студије

Лонгитудинална, проспективна клиничка студија.

2.7.2. Популација која се истражује

Планирано истраживање би обухватило 100 критично оболелих пацијената (старијих од 18 година, оба пола) примљених у Јединицу интензивног лечења (ЈИЛ) Опште болнице Ваљево. Трајање истраживања је планирано до прикупљања планираног броја узорака. Цео протокол истраживања је одобрен од стране Етичког одбора Опште болнице у Ваљеву. Од пацијената је добијена писана сагласност за учествовање у студији. У случају да због опстег стања пацијента није било могуће узети пристанак, исти је добијен од најближег сродника.

2.7.3. Узорковање

Испитаници ће бити сврстани у две групе:

1. Пацијенти који су оперисани /који су били подвргнути хирушком захвату пре узимања узорака ($n=50$)
 - a. Пацијенти који имају сепсу ($n=25$)
 - b. Пацијенти који имају септични шок ($n=25$)
2. Пацијенти који нису оперисани ($n=50$):
 - a. Пацијенти који имају сепсу ($n=25$)
 - b. Пацијенти који имају септични шок ($n=25$)

Сепса је дефинисана као промена SOFA скор >2 . Септични шок је дефинисан као сепса где је неопходно применити вазопресоре да би се одржавао MAP [mean arterial pressure] >65 mmHg уз ниво серумских лактата > 2 mmol/L.

Скор (SOFA score) је израчунаван преко табеле 1 у прилогу и *on line* помоћу калкулатора за на сајту ClinCalc.com *Sequential Organ Failure Assessment (SOFA)* (<https://clincalc.com/IcuMortality/SOFA.aspx>)

Болесници би били укључивани у студију када се констатује да имају сепсу на дан када испуњавају SEPSIS-3 критеријум за сепсу (повећање ≥ 2 SOFA скорa). Тај дан би се узимали први узорци крви.

Болеснику би се у истом акту и из истог венског пута узела једна епрувета крви за анализе параметара оксидационог стреса и одређивање нивоа прокалцитонина (PCT). Израчунавање SOFA скорa би се понављало свакодневно док би се узимање узорака крви за ниво PCT и параметре оксидативног стреса поновили у периоду од 24 сата од

иницијалног узимања крви и након 72 сата. На тај начин би се добиле 3 временске тачке које би биле од интереса за праћење динамике вредности свих поменутих биомаркера. Ови временски интервали су одабрани због утицаја збуњујућих варијабли (започињање или прекид механичке вентилације, накнадне потребе са увођењем вазопресора, потреба за променом антибиотика, потреба за хирушком интервенцијом)

Из студије би били искључени пацијенти који су млађи од 18 година, труднице, болесници који су на имуносупресивној терапији, болесници са трансплантираним органима, болесници у терминалној фази малигних болести.

2.7.4. Варијабле

У студији ће бити праћени следећи параметри:

1. Полна и старосна структура пацијената
2. Дијагноза болести (место примарног инсульта)
3. Ниво прокалцитонина
4. Маркери оксидационог стреса
 - прооксиданси: индекс липидне пероксидације (TBARS), азот моноксид у облику нитрита (NO), супероксид анјон радикал (O_2^-), водоник пероксид (H_2O_2)
 - антиоксиданси: супероксид дизмутаза (SOD), каталаза (CAT) и редуковани глутатион (GSH)
5. Параметри крвне слике (број леукоцита, број еритроцита, број тромбоцита...)
6. Нумеричка вредност SOFA скорa
7. PaO_2/FiO_2
8. Глазгов кома скала
9. Средњи артеријски притисак и/или неопходност примене вазопресора
10. Вредности билирубина
11. Вредности креатинина и количина излученог урина
12. Морталитет

Прооксидациони параметри (TBARS, NO, O_2^- и H_2O_2) и параметри антиоксидационе заштите (SOD, CAT и GSH) биће одређивани спектрофотометријском методом из плазме и еритроцита. За узорковање крви биће коришћен вакутајнер са цитратним пуфером волумена 5 ml (3,2% натријум-цитрат; 109 mmol/L). Након узимања,

крв се центрифугира на 3000 rpm 10 минута и изваја се плазма а затим се спроводи испирање еритроцита на следећи начин. У односу 1:3 додаје се хладан физиолошки раствор и центрифугира на 3000 обртаја 10 минута. Наведени поступак се понавља 3 пута. Након трећег пута, одстриани се супернатант, издвоји се 1ml еритроцита и дода 3ml хладне дестиловане воде. Тако одвојена плазма и еритроцити чувају се на температури од -20°C до почетка извођења експеримената. Сви поменути параметри оксидационог стреса биће одређивани на Институту за кардиоваскуларну физиологију, Факултет медицинских наука, Универзитета у Крагујевцу.

Током извођења студије биће поштовани сви прописи добре клиничке праксе који су одређени одредбама Етичког одбора Опште болнице у Ваљеву, и усклађени са Европском директивом у овој области.

2.7.5. Снага студије и величина узорка

Прорачун укупног узорка је базиран на резултатима недавно публиковане студије која је проучавала корелацију вредности прокалцитонина, ацидобазног статуса и осталих биомаркера код пацијената са тешким обликом сепсе. За прорачун је коришћен t-тест за независни узорак, двоструко, уз претпоставку алфа грешке од 0,05 и снаге студије 0,8 (бета грешка 0,2) и уз коришћење одговарајућег рачунарског програма. Узимајући у обзир резултате поменутог истраживања, прорачунато је да је потребно најмање 50 пацијената у обе групе, односно по 25 пацијената у свакој подгрупи.

2.7.6. Статистичка обрада података

1) Подаци добијени истраживањем ће бити обрађени методама дескриптивне и аналитичке статистике и биће приказани табеларно и графички. Статистичка обрада ће обухватити употребу статистичког програма SPSS 18.0 for Windows. За опис параметара од значаја, у зависности од њихове природе, користиће се: фреквенција, проценти, узорачка средња вредност, узорачка медијана, узорачка стандардна девијација, ранг и 95% интервали поверења. За испитивање нормалности расподеле користиће се тестови Kolmogorov Smirnov и Shapir Wilk, и графици: хистограм и normal QQ plot. За тестирање разлика између параметара, у зависности од њихове природе, користиће се Studentov t-тест, Mann-Whitney тест, Фишеров тест апсолутне вероватноће, једнофакторска или

двофакторска анализа варијансе. Приликом тестирања разлика између параметара, услед постојања подгрупа, користиће се Bonferroni тест.

2.8. Очекивани резултати докторске дисертације

Изведени закључци истраживања би указали да ли има корелације између нивоа прокалцитонина и интезитета оксидационог стреса код болесника са сепсом и септичним шоком. Очекујемо да ће ниво прооксиданаса корелирати са повећаним вредностима прокалцитонина. Такође испитаће се да ли смањење капацитета антиоксидационе заштите корелира са нивоом прокалцитонина.

2.9. Оквирни садржај докторске дисертације

Ако би се утврдило да постоји корелација између нивоа пролактонина и сниженог капацитета антиоксидационе заштите, вредности прокалцитонина би могле бити предиктивни фактори нивоа оксидационог стреса. У том случају могао би се отворити терапијски простор за рано ајдувантно укључивање антиоксиданаса у терапији сепсе одмах по добијању вредности прокалцитонина. На тај начин би се организму помогло да се у току интензивних дешавања током сепсе смањи ниво оксидационог стреса и тиме помогне излечење.

3. Предлог ментора

За коменторе ове докторске дисертације се предлажу проф. др Владимир Јаковљевић, редовни професор Факултета медицинских наука Универзитета у Крагујевцу за ужу научну област Физиологија, и проф. др Јасна Јевђић, редовни професор Факултета медицинских наука Универзитета у Крагујевцу за ужу научну област Хирургија.

Проф. др Владимир Јаковљевић и проф. др Јасна Јевђић поседују стручне и научне компетенције које су комплементарне са предметом истраживања и 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

Радови проф. др Владимира Јаковљевића који су у вези са темом докторске дисертације:

1. Vranic A, Pruner I, Veselinovic M, Soutari N, Petkovic A, **Jakovljevic V**, Antovic A. Assessment of hemostatic disturbances in women with established rheumatoid arthritis. *Clin Rheumatol*. 2019. doi: 10.1007/s10067-019-04629-8.
2. Tomic-Smiljanic M, Vasiljevic D, Lucic-Tomic A, Andjelkovic N, **Jakovljevic V**, Bolovich S, Veselinovic M. Influence of different supplementation on platelet aggregation in patients with rheumatoid arthritis. *Clin Rheumatol*. 2019;38(9):2443-2450.
3. Tepić S, Petković A, Srejović I, Jeremić N, Zivković V, Loncarević S, Bradić J, **Jakovljević V**, Zivković M. Impact of hyperbaric oxygenation on oxidative stress in diabetic patients. *Undersea Hyperb Med*. 2018;45(1):9-17.
4. Babic GM, Markovic SD, Varjagic M, Djordjevic NZ, Nikolic T, Stojic I, **Jakovljevic V**. Estradiol decreases blood pressure in association with redox regulation in preeclampsia. *Clin Exp Hypertens*. 2018;40(3):281-286.
5. Veselinovic M, Vasiljevic D, Vucic V, Arsic A, Petrovic S, Tomic-Lucic A, Savic M, Zivanovic S, Stojic V, **Jakovljevic V**. Clinical Benefits of n-3 PUFA and α -Linolenic Acid in Patients with Rheumatoid Arthritis. *Nutrients*. 2017;9(4). pii: E325.

Радови проф. др Јасне Јевђић који су у вези са темом докторске дисертације:

1. Djordjevic D, Rondovic G, Surbatovic M, Stanojevic I, Udovicic I, Andjelic T, Zeba S, Milosavljevic S, Stankovic N, Abazovic D, **Jevdjic J**, Vojvodic D. Neutrophil-to-Lymphocyte Ratio, Monocyte-to-Lymphocyte Ratio, Platelet-to-Lymphocyte Ratio, and Mean Platelet Volume-to-Platelet Count Ratio as Biomarkers in Critically Ill and Injured Patients: Which Ratio to Choose to Predict Outcome and Nature of Bacteremia? *Mediators Inflamm*. 2018;2018:3758068.
2. Djordjevic D, Pejovic J, Surbatovic M, **Jevdjic J**, Radakovic S, Veljovic M, Peric A, Andjelic T, Popovic N. Prognostic Value and Daily Trend of Interleukin-6, Neutrophil CD64 Expression, C-Reactive Protein and Lipopolysaccharide-Binding Protein in Critically Ill Patients: Reliable Predictors of Outcome or Not? *J Med Biochem*. 2015;34(4):431-439.

3. Surbatovic M, Popovic N, Vojvodic D, Milosevic I, Acimovic G, Stojicic M, Veljovic M, **Jevdjic J**, Djordjevic D, Radakovic S. Cytokine profile in severe Gram-positive and Gram-negative abdominal sepsis. *Sci Rep*. 2015;5:11355.
4. Surbatovic M, Veljovic M, **Jevdjic J**, Popovic N, Djordjevic D, Radakovic S. Immunoinflammatory response in critically ill patients: severe sepsis and/or trauma. *Mediators Inflamm*. 2013;2013:362793.
5. Raffay V, Chalkias A, Lelovas P, Karlis G, Koutsovasilis A, Papalois A, **Jevdjic J**, Fiser Z, Xanthos T. Addition of glucagon to adrenaline improves hemodynamics in a porcine model of prolonged ventricular fibrillation. *Am J Emerg Med*. 2014;32(2):139-43.

4. Научна област дисертације

Медицина. Изборно подручје: Клиничка и експериментална физиологија са спортском медицином

5. Научна област чланова комисије

1. **Проф. др Маја Шурбатовић**, редовни професор Медицинског факултета Војномедицинске академије Универзитета одбране у Београду за ужу научну област *Анестезиологија и интезивно лечење*, председник;
2. **Доц. др Александар Цветковић**, доцент Факултета медицинских наука Универзитета у Крагујевцу за ужу научну област *Хирургија*, члан;
3. **Доц. др Исидора Милосављевић**, доцент Факултета медицинских наука Универзитета у Крагујевцу за ужу научну област *Фармацеутска биотехнологија*, члан.

ЗАКЉУЧАК И ПРЕДЛОГ КОМИСИЈЕ

На основу досадашњег научно-истраживачког рада кандидат Јасна Петровић испуњава све услове за одобрење теме и израду докторске дисертације. Предложена тема је научно оправдана и оригинална, дизајн истраживања прецизно постављен и дефинисан, а научна методологија јасна и прецизна.

Комисија предлаже Научно-наставном већу Факултета медицинских наука Универзитета у Крагујевцу да прихвати тему докторске дисертације кандидата Јасне Петровић, под називом “Повезаност вредности прокалцитонина и параметара оксидационог стреса код пацијената са сепсом“ и одобри њену израду.

ЧЛАНОВИ КОМИСИЈЕ

Проф. др Маја Шурбатовић, редовни професор Медицинског факултета
Војномедицинске академије Универзитета одбране у Београду за ужу научну област

Анестезиологија и интензивно лечење, председник

Šurbatović Maја

Доц. др Александар Цветковић, доцент Факултета медицинских наука Универзитета
у Крагујевцу за ужу научну област *Хирургија*, члан

Alexander Cvetković

Доц. др Исидора Милосављевић, доцент Факултета медицинских наука
Универзитета у Крагујевцу за ужу научну област *Фармацеутска биотехнологија*, члан

I. Milosavljević

У Крагујевцу, 10.10.2019. године