

ПРИЈЕМА	28.12.22
Организац.	
05	15885/4-4

1. Одлука Већа за медицинске науке Универзитета у Крагујевцу

Одлуком Већа за медицинске науке Универзитета у Крагујевцу, број IV-03-1032/23 од 08.11.2017. године именовани су чланови комисије за оцену научне заснованости теме докторске дисертације кандидата **Марије Вранеш**, под називом:

„Испитивање значаја агрегометрије и ротационе тромбоеластографије у поремећају хемостазе код болесника са тешким облицима системске бактеријске инфекције“

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

1. **Проф. др Предраг Ђурђевић**, ванредни професор Факултета медицинских наука Универзитета у Крагујевцу за ужу научну област Интерна медицина, председник
2. **Проф. др Бела Балинг**, редовни професор Медицинског факултета Војномедицинске академије Универзитета одбране у Београду за ужу научну област Интерна медицина-Хематологија, члан
3. **Доц. др Јелена Пантић**, доцент Факултета медицинских наука Универзитета у Крагујевцу за ужу научну област Микробиологија и имунологија, члан

На основу увида у приложену документацију, Комисија подноси Наставно научно већу Факултета медицинских наука у Крагујевцу следећи:

2. Извештај комисије о оцени научне заснованости теме докторске дисертације

Кандидат **Марија Вранеш** испуњава све формалне услове предвиђене Законом о високом образовању, Статутом Универзитета у Крагујевцу и Статутом Факултета медицинских наука у Крагујевцу за пријаву теме докторске дисертације.

2.1 Кратка биографија кандидата

Др Марија Вранеш рођена је 27. фебруара 1973. године у Београду Република Србија. Основну школу и средњу Медицинску школу је завршила у Крагујевцу. Медицински факултет у Крагујевцу уписала је школске 1991/1992 године, а звање доктора медицине стекла је у јуну 1999 године. Током студирања радила као медицинска сестра у приватној Гинеколошкој ординацији »Деметра« у периоду од априла 1995 до априла 1999 године. у Крагујевцу. Након завршених студија обавила је обавезан приправнички стаж у Оштој болници Чачак и положила стручни испит 2000. године. Од октобра 2000. до јануара 2002. године радила је у Хитној помоћи Чачак као лекар опште праксе и започела волонтерску специјализацију из Трансфузије. Од 2003 до 2004. године радила у Дому здравља Крагујевац, кућно лечење, као лекар опште праксе. Са магистарских студија које је започела 1999 године на Медицинском факултету Крагујевац, прешла на докторске академске студије на

Факултету медицинских наука у Крагујевцу школске 2005 године – изборно подручје Имунологија. Све испите предвиђене планом и програмом студија положила је током похађања магистарских, а усмени докторски испит положила је у новембру 2007. године. Од 2004 – 2016 године ради у Клиничком центру Крагујевац у Служби за снабдевање крвљу и крвним производима као специјалиста трансфузиологије, а од марта 2016. године као субспецијалиста - Клинички трансфузиолог који је завршила у Институту за трансфузију крви „Свети Сава“ - Београд.

2.2 Наслов, предмет и хипотезе докторске тезе

Наслов: „ Испитивање значаја агрегометрије и ротационе тромбоеластографије у поремећају хемостазе код болесника са тешким облицима системске бактеријске инфекције”

Предмет: Стопа морталитета код болесника са тешким облицима системске бактеријске инфекције се креће између 20% и 60%. Поремећаји хемостазе представљају чест налаз код болесника са тешким облицима системске бактеријске инфекције што се сматра фактором ризика за морталитет. Уобичајене анализе хемостазе као што су протромбинско време (РТ) и активирано тромбопластинско време (аРТТ) рутински се врше да би се проценио статус коагулације код болесника са тешким облицима системске бактеријске инфекције. Ови тестови не процењују цео коагулациони процес. Како би се превазишли ови недостаци појавили су се глобални тестови коагулације, као што су тромбоеластографија (ТЕГ) и ротациона тромбоеластографија (ROTEM), који анализирају целу крв. Код тешких облика системске бактеријске инфекције често је агрегација тромбоцита смањена. Агрегометрија импенданце целе крви је метод испитивања који се показао као предиктор дијагнозе и прогнозе код пацијената са тешким облицима системске бактеријске инфекције.

Хипотезе:

1. Постоји значајна учесталост поремећаја коагулације код болесника са тешким облицима системске бактеријске инфекције или синдромом системског инфламацијског одговора (SIRS).
2. Учесталост хипокоагулабилног стања разликује се код болесника са тешким облицима системске бактеријске инфекције и SIRS-ом процењена помоћу агрегометрије и/или ротационе тромбоеластографије
3. Учесталост хиперкоагулабилног стања разликује се код болесника са тешким облицима системске бактеријске инфекције и SIRS-ом процењена помоћу агрегометрије и/или ротационе тромбоеластографије
4. Учесталост дисеминоване интраваскуларне коагулопатије разликује се код болесника са тешким облицима системске бактеријске инфекције и SIRS-ом процењена помоћу агрегометрије и/или ротационе тромбоеластографије
5. Агрегометрија има значајну улогу у брзини доношења клиничке одлуке и избора терапијског режима.
6. Ротациона тромбоеластографија има значајну улогу у брзини доношења клиничке одлуке и избора терапијског режима.
7. Комбинација агрегометрије и ротационе тромбоеластографије повећава сензитивност и специфичност у избору терапијског режима и смањује брзину доношења клиничке одлуке.
8. Постоји значајна разлика у крајњем интрахоспиталном исходу између болесника са тешким облицима системске бактеријске инфекције и болесника са SIRS-ом који су развили поремећај коагулације.

2.3 Испуњеност услова за пријаву теме докторске дисертације

Кандидат је објавио рад у целини у водећем националном часопису категорије M52 у коме је први аутор, чиме је испунио услов за пријаву докторске тезе:

Vraneš M, Lojpur Z, Todorović M, Ostojić G, Ristanović E, Balint B. Case Report: Lifesaving therapeutic plasma exchange by cell saver in an obstetric emergency. *Med Čas (Krag)* 2017; 51(1): 30-33.

2.4. Преглед стања у подручју истраживања

Тешки облици системске бактеријске инфекције тј. сепсе чине манифестацију сложених интеракција између инвазије микроорганизама и имунолошких, инфламацијских и коагулацијских одговора домаћина. Сепса погађа бројне органске системе и узрокује хемодинамске промене које могу напредовати у шок, органску дисфункцију и инсуфицијенцију органа. Упркос помацима у терапији, сепса има и даље велики значај због високе стопе морбидитета и mortalитета. Учесталост сепсе је порасла последњих година због честе употребе имunosупресивних лекова, инвазивне терапије и продужења животног века, што значи више старијих болесника са хроничним болестима. Стопа mortalитета код пацијената са сепсом се креће између 20% и 60%.

Коагулопатија је чест налаз код болесника са сепсом и сматра се фактором ризика за mortalитет. Механизми као што је неравнотежа између коагулације и фибринолизе приписани су коагулопатији код сепсе при чему спектар коагулопатије може да варира од хиперкоагулабилног до хипокоагулабилног стања.

Сматра се да је иницијални догађај у сепси директно или индиректно оштећење ендотела микроорганизмом или његовим токсином. Субендотелно ткиво бива погођено уз активацију колагеназе. У сепси постоји повећана експресија ткивног фактора на многим ћелијама као што су ендотелне ћелије, моноцити и друге чиме су створени услови за стварање комплекса ткивни фактор/активирани фактор VII. То је почетни догађај у једном веома сложеном процесу у коме учествују многи фактори коагулације што има за последицу стварање великих количина тромбина. Као резултат се може развити дисеминована интраваскуларна коагулација (ДИК) и може доћи до спонтаних крварења.

Рана дијагноза поремећаја хемостазе је значајна у одређивању терапије сепсе. У раним фазама може се видети само продужење протромбинског времена (РТ) и активираног парцијалног тромбoplastинског времена (аРТТ). Касније, као резултат потрошње фактора коагулације у сепси ће се развити коагулопатија. Уобичајене анализе коагулације као што су РТ и аРТТ рутински се врше да би се проценио статус коагулације код болесника са сепсом. Ови тестови не процењују цео коагулациони процес с обзиром да се раде из плазме без ћелијских компоненти (тромбоцити и ћелије које носе ткиво), а не у целој крви. Поред тога, они не успевају да дијагностикују стања хиперкоагулабилности и фибринолитички систем.

Како би се превазишли ови недостаци појавили су се глобални тестови коагулације, као што су тромбоеластографија (ТЕГ) и ротациона тромбоеластографија (ROTEM), који анализирају целу крв (и плазма и ћелијске компоненте) и подсећају на *in vivo* хемостазу. ТЕГ и ROTEM детаљно дефинишу динамику формирања угрушка (развој, стабилизацију и разградњу угрушка), пружају релевантне информације о адхезивности, еластичности и физичким својствима угрушка из динамичке и глобалне перспективе.

Улога агрегације тромбоцита је веома важна код запаљења. Код тешке сепсе често је агрегација тромбоцита смањена. Агрегометрија импенданце целе крви је метод испитивања који се може користити за мерење агрегације тромбоцита у одговору на различите агонисте, и показао се као предиктор дијагнозе и прогнозе код пацијената са тешком сепсом. Уочено је

да постоји значајно мања агрегација тромбоцита код болесника са тешком сепсом и септичким шоком у поређењу са SIRS и некомпликованом сепсом. Раније је постављена хипотеза да се смањена агрегација тромбоцита може јавити у тешкој сепси и септичном шоку као последица повећане потрошње тромбоцита, јавља се због хиперкоагулабилног стања и ендотелне дисфункције. Ово указује на то да би тромбоцитна агрегометрија могла бити биомаркер ендотелне функције и озбољности дисеминоване интраваскуларне коагулације.

2.5. Значај и циљ истраживања

Значај

Важност овог истраживања огледа се у испитивању значаја агрегометрије и ротационе тромбоеластографије, дијагностичких метода појединачно али и значаја комбиновања ових метода у циљу бржег утврђивања поремећаја хемостазе, доношења одлуке и адекватном терапијском избору. Очекује се да ће ово истраживање потврдити досадашње податке о значајној учесталости коагулопатија у сепси и SIRS-у, али да ће пружити и нова сазнања у погледу диференцирања коагулопатија, њихове учесталости у зависности од степена сепсе/SIRS-а и оптималног времена за почетак лечења.

Циљеви

Циљ овог истраживања је испитивање појединачног и комбинованог значаја агрегометрије и ротационе тромбоеластографије у процени коагулопатија код некрварећих болесника са сепсом или синдромом системског инфламацијског одговора.

2.6. Веза истраживања са досадашњим истраживањима

Ово истраживање је једно ретких од до сада публикованих истраживања у коме ће бити коришћене агрегометрија и ротациона тромбоеластографије као методе за процену функције тромбоцита што има значај у постављању основа за будућа истраживања. Такође, у нашем истраживању биће укључен већи узорак испитаника у односу на већину до данас спроведених истраживања. Очекује се да ће ово истраживање потврдити досадашње податке о значајној учесталости коагулопатија у сепси и SIRS-у, али и да ће пружити и нова сазнања у погледу диференцирања коагулопатија, њихове учесталости у зависности од степена сепсе/SIRS-а и оптималног времена за почетак лечења.

2.7 Методе истраживања

2.7.1 Врста студије

Студија је дизајнирана као делом ретроспективна, делом проспективна, клиничка, нетерапијска, интервентна студија по типу студије пресека, усмерена на испитивање појединачног и комбинованог значаја агрегометрије и ротационе тромбоеластографије у процени поремећаја хемостазе код некрварећих пацијената са сепсом или синдромом системског инфламаторног одговора.

2.7.2 Популација која се истражује

Испитивање ће обухватити 135 болесника са сепсом или SIRS-ом, без крварења, лечених у Јединици интензивне неге, Клиничког центра Крагујевац или у хоспиталном делу Центра за ургентну медицину, Клиничког центра Крагујевац, у периоду од 2015-2018. године. Код свих испитаника ће се радити конвенционални коагулацијски тестови, а затим ће испитаници бити подељени у три хомогене групе на основу коришћене дијагностичке методе за процену

поремећаја хемостазе (агрегометрија, ротациона тромбоеластографија или комбинација обе методе), при чему ће свака од група укључити по 45 испитаника.

Укључујући критеријуми ће бити: одрасле особе, оба пола, старости од 18 до 60 година који добровољно пристану да учествују у студији и који немају искључујућих фактора.

Студија ће се заснивати на праћењу три групе испитаника:

1. Испитаници са сепсом или SIRS-ом код којих је спроведена агрегометрија
2. Испитаници са сепсом или SIRS-ом код којих је спроведена ротациона тромбоеластографија (ROTEM)
3. Испитаници са сепсом или SIRS-ом код којих су спроведене агрегометрија и ротациона тромбоеластографија (ROTEM)

Приликом прегледа у Јединици интензивне неге, Клиничког центра Крагујевац и у хоспиталном делу Центра за ургентну медицину, Клиничког центра Крагујевац болесници ће бити прегледани од стране истраживача уз детаљну процену анамнестичких података и претходне медицинске документације. Испитаници ће бити упознати са студијом и потврдити своје учешће у студији потписивањем информисаног пристанка.

2.7.3 Узорковање

Узорковање болесника ће се обављати по принципу простог случајног узорка, коришћењем таблица случајних бројева из целокупне популације болесника са сепсом или SIRS-ом, лечених у Јединици интензивне неге, Клиничког Центра Крагујевац или хоспиталном делу Центра за ургентну медицину, Клиничког центра Крагујевац, који потенцијално испуњавају укључујуће критеријуме. Сваки болесник ће бити прегледан од стране истраживача, ради утврђивања укључујућих и искључујућих критеријума. Болесници који задовољавају критеријуме биће укључени у студију до броја који је прерачунат за укупну величину узорка.

2.7.4 Варијабле које се мере у студији

Независна варијабла је присуство поремећаја хемостазе код болесника са сепсом или SIRS-ом.

2.7.5 Снага студије и величина узорка

Прорачун укупног узорка је заснован на резултатима претходно публиковане студије (Kilic Y, Topcu I, Bambal H, Civi M. Thromboelastography in the evaluation of coagulation disorders in patients with sepsis. Turk J Med Sci. 2014; 44: 267-272) За прорачун је коришћен Т-тест за везани узорак, двоструко, уз претпоставку алфа грешке од 0,05 и снага студије 0,8 (бета грешка 0,2) и уз коришћење одговарајућег рачунарског програма (17). Узимајући у обзир резултате наведене студије у којој је коришћена једна дијагностичка метода за испитивање функције тромбоцита и учесталости коагулопатије у сепси укупан број испитаника је прорачунат на 75. С обзиром да ће у нашој студији бити коришћене две различите дијагностичке методе, да не постоји стандардизована дефиниција коагулопатија помоћу TEG/ROTEM и/или агрегометрије и да висок морталитет у сепси може значајно утицати на број испитаника, извршена је корекција прорачуна и добијен је укупан број испитаника 135, са по 45 испитаника у свакој групи.

2.7.6 Статистичка обрада података

Статистичка обрада података ће се вршити на следећи начин:

1. 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.
2. За испитивање нормалности расподеле користиће се тестови *Kolmogorov Smirnov* и *Shapiro-Wilk*, и графици: хистограм и *normal QQ plot*.
3. За тестирање разлика између параметара, у зависности од њихове природе, користиће се Студентов т-тест, *Mann-Whitney* тест, Фишеров тест апсолутне вероватноће, једнофакторска или двофакторска анализа варијансе. Приликом тестирања разлика између параметара, у случају постојања више подгрупа, користиће се *Bonferroni* тест.
4. Статистичка обрада података ће се радити у статистичком пакету *SPSS 20.0 for Windows*.
5. Разлике ће бити сматране за значајне када р вредност буде била мања од 0.05.

2.8. Очекивани резултати докторске дисертације

Досадашње спроведене студије које су се бавиле испитивањем функције тромбоцита, учесталости коагулопатија и њиховог утицаја на интрахоспитални исход код болесника са сепсом и SIRS-ом у својој методологији користиле су само једну од дијагностичких метода, агрегометрију или тромбоеластографију (ротациону тромбоеластографију). Основна предност и значај овог истраживања огледа се у испитивању значаја поменутих дијагностичких метода појединачно, али и значаја комбиновања ових метода у циљу бржег детектовања поремећаја хемостазе и бржег доношења одлуке о адекватном терапијском избору.

Очекује се да ће ово истраживање потврдити досадашње податке о значајној учесталости коагулопатија у сепси и SIRS-у, али да ће пружити и нова сазнања у погледу диференцирања коагулопатија, њихове учесталости у зависности од степена сепсе/SIRS-а и оптималног времена за почетак лечења.

2.9. Оквирни садржај дисертације

Агрегометрија импеданце целе крви представља методу за испитивање функције тромбоцита у целој крви. Ова метода користи се за дијагностиковање поремећаја функције тромбоцита, праћење ефеката антиромбоцитне терапије и испитивање потенцијалних предиктора за потребе трансфузије и ризика за крварење.

Испитивање се врши помоћу point-of-care уређаја који у 5 различитих канала омогућавају симултано мерење неколико узорака или агониста. Ова метода процењује промене у електричној импеданци када дође до агрегације тромбоцита за металне електроде у тест киветама. Свака кивета садржи 2 пара сензорних електрода од којих свака мери промене у импеданци. Двоструки сензори служе за интегрисану контролу квалитета и анализа се сматра прихватљивом ако је коефицијент корелације између мерења 0.98. Израчунава се и разлика сваке добијене криве у односу на средњу криву при чему је прихватљив резултат када је разлика мања од 20%. Повећање импеданце током агрегације претвара се у агрегационе јединице (AU).

Тромбоеластографија (TEG) је метода за процену вискоеластичних својстава током настанка крвних угрушака и лизе угрушака. Користећи целу крв ова метода може пружити информације које се односе на кумулативне ефекте различитих параметара (фактори плазме, тромбоцити и леукоцити) у свим фазама процеса коагулације и фибринолизе.

Недавно је развијен модификовани ротациони тромбеластограм (ROTEM; Pentapharm, Минхен, Немачка) који је превазишао нека од ограничења класичног TEG-а. Користећи

електронску пипету ова метода повећава репродукцибилност и перформансе и у зависности од посматраних параметара резултати су доступни већ за 15 минута до 1 часа. Због тога ROTEM може довести до брже и тачније клиничке одлуке.

TEG и ROTEM детаљно дефинишу динамику формирања угрушка (развој, стабилизацију и разградњу угрушка), пружају релевантне информације о адхезивности, еластичности и физичким својствима угрушка из динамичке и глобалне перспективе.

Испитаницима у групи код којих се изводи ROTEM и комбинација агрегометрије и ROTEM-а биће узети узорци целе крви у епрувете са 3,8% натријум цитратом. У литератури постоје опречна мишљења о стабилности и репродукцибилности TEG мерења након складиштења узорка крви на собној температури. Сматра се да је најоптималније извести мерења у року од 30 минута до 4 сата. Узорци крви узети од испитаника биће анализирани између 1 и 2 сата након складиштења крви на собној температури.

Параметри који ће бити анализирани помоћу ROTEM методе пратиће процес формирања угрушка и кинетику насталог угрушка.

Применом ROTEM методе хипокоагулабилност се дефинише као повећање СТ (R) и CFT (K) и/или смањење MCF (MA) и α угла. Хиперкоагулабилност се дефинише као смањено време реакције (СТ (R) и CFT (K)) и повећано формирање угрушка (повећан алфа угао или максимална амплитуда).

3. Предлог ментора

Комисија за ментора ове докторске дисертације предлаже **проф. др Горан Давидовић**, ванредног професора Медицинског факултета Универзитета у Крагујевцу за ужу научну област Интерна медицина. Проф. др Горан Давидовић 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 Горан Давидовић поседује стручне и научне компетенције које су комплементарне са предметом истраживања и планираном методологијом, као и искуство и остварене резултате у развоју научно наставног подмлатка.

Радови предложеног ментора који су у вези са темом докторске дисертације:

1. Ignjatovic V, Pavlovic S, Miloradovic V, Andjelkovic N, Davidovic G, Djurdjevic P, Stolic R, Iric-Cupic V, Simic I, Ignjatovic VD, Petrovic N, Smiljanic Z, Zdravkovic V, Simovic V, Jovanovic D, Nesic J. Influence of Different β -Blockers on Platelet Aggregation in Patients With Coronary Artery Disease on Dual Antiplatelet Therapy. *Journal of Cardiovascular Pharmacology and Therapeutics*. 2016; 21 (1): 44-52.

2. Bugiardini R, Ricci B, Cenko E, Vasiljevic Z, Kadev S, Davidovic G, Zdravkovic M, Milicic D, Dilic M, Manfrini O, Koller A, Badimon L. Delayed Care and Mortality Among Women and Men With Myocardial Infarction. *J Am Heart Assoc*. 2017; 6 (8). Doi: 10.1161/JAHA.117.005968.

3. Zornic N, Milovanovic DR, Stojadinovic M, Radovanovic D, Davidovic G, Simovic S, Bukumiric Z, Janjic V, Maric N, Jevdjic J, Rosic V, Nesic J. Quality of life in mechanically ventilated patients with community-acquired pneumonia. *Vojnosanitetski pregled*. 2017; doi: 10.2298/VSP160905008Z.

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 of coronary flow and oxidative stress markers. *Gen Physiol Biophys*. 2009; 28: 98-104.

4. Научна област дисертације

Медицина. Ужа област Имунологија.

5. Научна област чланова комисије

1. Проф. др Предраг Ђурђевић, редовни професор Факултета медицинских наука Универзитета у Крагујевцу за ужу научну област Интерна медицина - Хематологија, председник

2. Проф. др Бела Балинг, редовни професор Медицинског факултета Војномедицинске академије Универзитета одбране у Београду за ужу научну област Интерна медицина-Хематологија, члан

3. Доц. др Јелена Пантић, доцент Факултета медицинских наука Универзитета у Крагујевцу за ужу научну област Микробиологија и имунологија, члан

ЗАКЉУЧАК И ПРЕДЛОГ КОМИСИЈЕ

На основу досадашњег научно-истраживачког рада кандидат, Марија Вранеш, 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.

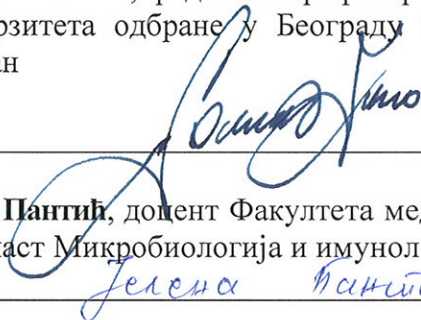
Комисија предлаже Научно-наставном већу Факултета медицинских наука Универзитета у Крагујевцу да прихвати тему докторске дисертације кандидата Марије Вранеш, под насловом: **“Испитивање значаја агрегометрије и ротационе тромбоеластографије у поремећају хемостазе код болесника са тешким облицима системске бактеријске инфекције”** и одобри њену израду.

ЧЛАНОВИ КОМИСИЈЕ

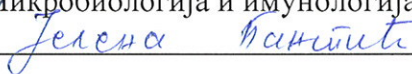
1 **Проф. др Предраг Ђурђевић**, редовни професор Факултета медицинских наука Универзитета у Крагујевцу за ужу научну област Интерна медицина - Хематологија, председник



2. **Проф. др Бела Балинг**, редовни професор Медицинског факултета Војномедицинске академије Универзитета одбране у Београду за ужу научну област Интерна медицина-Хематологија, члан



3. **Доц. др Јелена Панџић**, доцент Факултета медицинских наука Универзитета у Крагујевцу за ужу научну област Микробиологија и имунологија, члан



У Крагујевцу, 29.11.2017. године