

**УНИВЕРЗИТЕТ У КРАГУЈЕВЦУ
МЕДИЦИНСКИ ФАКУЛТЕТ
КРАГУЈЕВАЦ**

Одлука Изборног већа

Одлуком Изборног већа Медицинског факултета Универзитета у Крагујевцу, број 01-6270/3-12 од 21.09.2011.године, именовани су чланови комисије за оцену научне заснованости теме докторске дисертације кандидаткиње мр сц.мед. др Невенке Илић , под називом: „**Биомаркери алергијских фенотипова код деце узраста до две године.**”

Чланови комисије су:

1. **Доц. др Марина Петровић**, доцент Медицинског факултета, Универзитета у Крагујевцу, ужа научна област Интерна медицина , председник
2. **Проф. др Снежана Живанчевић**, редовни професор Медицинског факултета Универзитета у Крагујевцу, ужа научна област- Патолошка физиологија,члан
3. **Проф. др Марија Мостарица Стојковић**, редовни професор Медицинског факултета, Универзитета у Београду, ужа научна област-Микробиологија и имунологија, члан
4. **Проф. др Дејан Баскић**, ванредни професор Медицинског факултета, Универзитета у Крагујевцу, ужа научна област- Микробиологија и имунологија, члан
5. **Проф. др Зоран Игрутиновић**, ванредни професор Медицинског факултета, Универзитета у Крагујевцу, ужа научна област- Педијатрија, члан

На основу увида у приложену документацију, Комисија подноси Изборном већу Медицинског факултета у Крагујевцу следећи

Извештај о оцени научне заснованости теме докторске дисертације

Кандидаткиња, мр сц. мед. др Невенка Илић, испуњава све услове предвиђене Законом о високом образовању и Статутом Медицинског факултета у Крагујевцу за израду докторске дисертације.

2.1 Кратка биографија кандидата

Невенка Илић рођена је 24.08.1969. године у Крагујевцу, где је завршила основну и средњу медицинску школу. Медицински факултет Универзитета у Крагујевцу, уписала је 1988. године а дипломирала 1994.године са просечном оценом 9,10. Након завршеног Медицинског факултета 1995. године радила је две године на Медицинском факултету Универзитета у Крагујевцу као сарадник у научно-истраживачким пројектима. Специјализацију из педијатрије уписала је 1996. године на Медицинском факултету Универзитета у Београду, а 2000. године положила специјалистички испит и тиме стекла звање специјалисте педијатрије.

Од 1997.- 2002.године била је запослена у КЦ Крагујевац – Клиника за педијатрију. Од 2002.-2006. године била је запослена у Специјалној болници за интерну медицину " Нова Вита" – Београд на месту директора болнице.

На Медицинском факултету у Крагујевцу 2005.године одбранила је магистарски рад из области неуронаука и стекла звање магистар медицинских наука.

Академске студије – изборно подручје – Имунологија, инфекција и инфламација на Медицинском факултету Универзитета у Крагујевцу уписала је школске 2007/08. године. Стално је запослена у Институту за јавно здравље Крагујевац од 2009. године.

2.2 Наслов, предмет и хипотезе докторске тезе

Наслов: "БИОМАРКЕРИ АЛЕРГИЈСКИХ ФЕНОТИПОВА КОД ДЕЦЕ УЗРАСТА ДО 2 ГОДИНЕ"

Предмет: Ова студија ће се бавити идентификацијом различитих алергијских феноטיפова у дечијој популацији и њиховим утицајем на клиничко испољавање хроничних респираторних болести.

Хипотезе:

- Атопија се у узрасту до 2 године, најчешће манифестује у три фенописа:
 - 1) гастроинтестинална болест са клиничким знацима атопијског дерматитиса и/или појавом рецидивантних гастроинтестиналних симптома / ређе столице, повраћање и изражени грчеви);
 - 2) респираторна болест у виду рецидивантног ринитиса, акутног отитиса и /или визинга
 - 3) мултисистемска болест са комбинованим симптомима и/или копривњачом
- Деца са атопијом имају повишене вредности укупних IgE антитела и снижене концентрације IL10 у односу на здраву децу.
- Деца са атопијском гастроинтестиналном болешћу имају повећани серумски ниво TSLP-а, као показатеља дефекта коже и слузокоже, у односу на контролну групу.
- Деца са атопијском респираторном болешћу имају концентрације TGF beta1 у односу на контролну групу, док ће деца са неатопијским визингом имати снижене концентрације CC16.
- Деца са мултисистемским испољавањем имаће највише концентрације укупних IgE антитела, ECP-а, TSLP-а и TGF beta 1, а најниже концентрације IL10

2.3 Подобност кандидата

Кандидаткиња је објавила један рад у целини у часопису са рецензијом, у коме је први аутор, чиме је испунила услов за пријаву докторске тезе:

1. Плић N, Veličković V, Đokić D, Ranković N, Kostić G, Petrović M, Radunović M, Baskić D. Клиничке манифестације атопије код деце у прве две године живота. *Vojnosanit Pregl* 2011; 68 (8):690-695. **M23 – 3 бода**

2.4 Преглед стања у подручју истраживања

Објективно тестирање алергије у најранијем узрасту неопходно је због ране идентификације повећаног ризика од развоја алергијских болести, што подразумева мере избегавања специфичног алергена, адекватне фармакотерапије, као и специфичне имунотерапије.

Према препорукама Европске академије за педијатријску алергологију и имунологију индикације за тестирање алергије су: рецидивантни визинг, гастроинтестинални (ГИТ) симптоми (повраћање, ненапредовање у телесној маси, дијареа, изражене колике), атопијски дерматитис, акутна уртикарија/едем, хронична уртикарија, ринитис, коњуكتивитис, реакције на уједе инсеката и анафилакса.

У свакодневној клиничкој пракси дијагноза атопијске болести поставља се на основу присуства симптома и позитивног кожног или *in vitro* теста за специфична IgE антитела. Појава специфичних IgE антитела на алергене лежи у основи развијања клиничког поремећаја (фенотипова) атопијске болести. Атопијске болести као што су атопијски дерматитис, алергијски ринитис и астма имају повећану преваленцију током последњих деценија, а у популационим студијама кумулативна преваленција алергијских болести у дечијем узрасту креће се од 25% до 35% (атопијски дерматитис 15-20%; астма 7-10%; алергијски ринитис 15-20%).

Системска природа алергијске болести огледа се у чињеници да једна особа може испољити различите облике алергијске болести током живота. Под појмом "алергијски марш" подразумева се прогресија клиничких манифестација атопије код једног болесника од појаве екцема/атопијског дерматитиса, алергије на храну и визинга у најранијем узрасту, преко појаве сензибилизације на инхалаторне алергене и настанка алергијског ринитиса, а у најтежим случајевима и астме. Евидентно је да атопијски марш представља клоничку прогресију атопијских болести код једне особе, али је неопходно тачно дефинисати појединачне фенотипове у најранијем узрасту у циљу утврђивања предиктивних параметара за каснији развој алергијских и коморбидитетних хроничних болести.

Значај и циљ истраживања са становишта актуелности у одређеној научној области

Циљеви:

- Дефинисати клиничке фенотипове атопијске конституције код деце узраста до 2 године
- Утврдити повезаност серумског нивоа укупних IgE антитела, IL10, ECP-а, TGF beta 1, TSLP-а и CC16 и атопијских фенотипова код деце узраста до 2 године.

Значај:

Истраживање ће допринети разјашњавању клиничких симптома алергијских болести у најранијем узрасту из аспекта имунопатолоких механизма, што има значајне импликације на постављање дијагнозе, а самим тим и примену оптималне терапије, као и правовремено и адекватно спровођење превенције алергијских болести.

2.6 Веза са досадашњим истраживањима

У више студија је показана повезаност између атопијског дерматитиса и астме, а од могућих механизма ове повезаности наводе се или дефекти баријере у кожи и /или слузокожи бронхија који узрокују имунолошку инфламацију при излагању алергену.

Генетска предиспозиција условљава рану сензибилизацију на инхалаторне алергене са настанком хроничне инфламације епитела дисајних путева, што уз понављања оштећења и последичну репарацију, доводи до ремоделовања дисајних путева, а за последицу има бронхијалну хиперреактивност и астму.

Као други могући имунопатогенетски механизми, који учествују у настанку ремоделовања дисајних путева у раном детињству се наводе: 1) постојање "астма фактора" који истовремено индукује еозинофилну инфламацију и ремоделовање 2) протективно ремоделовање које превенира хиперреактивност дисајних путева 3) поремећај репарације дисајних путева.

Еозинофилни катјонски протеин (ECP) се ослобађа из еозинофила у току њихове дегранулације. ECP је добар показатељ степена еозинофилне инфламације у алергијским болестима, али није повезан са настанком хиперреактивност дисајних путева у астми. Није утврђена статистички значајна разлика између нивоа ECP-а код асматицара са атопијском и неатопијском астмом.

TGF beta је протеин који контролише ћелијску пролиферацију и диференцијацију са значајним ефектом у процесима зарастања рана, а због потврђеног ефекта на хиперплазију и хипертрофију глатких мишићних ћелија у бронхијама, разматра се и као главни биомаркер ремоделовања дисајних путева у астми. У астми код деце и одраслих утврђене су повиђене концентрације серумског TGF beta у односу на здраве особе.

Тимусни стромални лимфопоетин (TSLP) је протеин од значаја у диференцијацији Т лимфоцита, а сматра се одговорним за настанак склоности ка алергији, али и генералним маркером дефекта коже као баријере. Показан је есенцијалан значај TSLP у диференцијацији Т лимфоцита као Th2 одговору у алергијским инфламаторним болестима коже.

16kDa Clara cell protein (CC16) продукују Клара ћелије у терминалним бронхиолама. Овај протеин има протективне ефекте на епител дисајних путева и разматра се као биомаркер интегритета плућног епитела у акутним и у хроничним болестима плућа. користи се за детекцију ефеката инхалаторних иританата на плућни епител као што су дувански дим или аерозагађење. Код пацијената са астмом утврђени су нижи нивои серумског CC16 протеин. међутим у испитивању 813 одојчади нижи ниво Clara cell протеина утврђен је код деце са понављаним визингом, али то снижење није било повезано са алергијском сензибилизацијом.

2.7 Методе истраживања

Врста студије:

Аналитичком студијом пресека утврдиће се учесталост симптома који се могу повезати са алергијом, а клиничка студија ће обухватити утврђивање атопије и нивоа серумских биомаркера у испитиваним групама.

Методологија:

Испитивање ће бити спроведено код деце узраста до 2 године, при чему ће се деца укључивати у студију методом случајног узорка, при редовним систематским прегледима, непосредно пре вакцинације или ревакцинације у Дому Здравља Крагујевац, у тренутку потпуног здравља детета. Подаци ће се добити анкетирањем родитеља и увидом у медицинску документацију (педијатријски картон). Деца ће бити разврстана у две групе: 1) здрава деца без испољавања симптома и 2) деца која су у периоду од рођења до тренутка испитивања, имала испољавање симптома и знакова који се могу повезати са алергијским болестима ("*allergy like*" симптоми) и то: једна или више понављаних бронхоопструкција потврђених од стране педијатра, рецидивантни ринитис, гастроинтестинални симптоми повезани са узимањем хране (дијареја, повраћање и ненапредовање у тежини), екзематозне промене по кожи, акутна и хронична уртикарија/ангиоедем, анафилакса, системске реакције на ујед инсекта.

Венска крв ће бити узимана деци у јутарњим часовима, након 2 сата центрифугирања, а серум ће бити чуван на -75°C до извођења есеја.

Утврђивање сензибилизације и степена еозинофилне инфламације

Концентрације укупних IgE и специфичних IgE (*Phadiatop infant*) одређиваће се *in vitro* FIA методом на *Immucap-100* апарату (*Phadia AB, Uppsala, Sweden*). *Phadiatop infant* је мултитест за детекцију IgE везаних алергијских болести који обухвата детекцију специфичних IgE антитела на протеине: беланца, крављег млека, кикирикија, рачића, длаке мачке и пса, гриње, полена сребрне брезе, мачијег репка, амброзије и коприве. Истом методом одређиваће се и концентрација *ECP-a* у серуму.

Одређивање серумске концентрације биомаркера

Концентрација биомаркера (*IL 10*, *TGF beta*, *TSLP* и *CC16*) одређиваће се у узорцима серума *ELISA* методом. Сва лабораторијска тестирања обавиће се у Институту за јавно здравље Крагујевац.

Статистичка обрада података

Величина узорка је израчуната на основу података о вредностима концентрације *ECP-a* и *TGF beta*, публикованих у студијама сличног дизајна. Студијски узорак је израчунат узимајући алфа као 0.05 и снагу студије од 0.8 за т-тест (два независна узорка), поредећи групе међу собом (у оба смера), према статистичком програму *G*Power3*.

На основу претпоставке која захтева већи узорак (*ECP*), утврђен је дефинитивни узорак испитаника од 128 деце. Овакав студијски узорак претпоставља утврђивање статистички значајне разлике (т-тестом за два независна узорка или *Mann-Whitney U* тестом) између група испитаника, са снагом студије $\geq 80\%$. За статистичку обраду добијених резултата ће се користити комерцијални програмски пакет *SPSS*.

2.8 Очекивани резултати докторске дисертације

Сходно подацима из литературе који се односе на алергијске фенотипове код деце и имунопатолошких механизма значајних за настанак астме, можемо претпоставити да ће деца са атопијом имати повећане концентрације укупних *IgE* антитела, док ће серумски ниво *IL 10* бити низак .

Деца са гастроинтестиналном болешћу ће имати и повећани серумски ниво *TSLP -a* као показатеља дефекта коже и слузокожа у односу на контролну групу.

Деца са атопијском респираторном болешћу у случају постојања рецидивантног визинга имаће и повећање концентрације *TGF beta 1* (настанак ремоделовања дисајних путева) у односу на контролну групу, док ће деца са неатопијским визингом имати снижене вредности *CC16*. Деца са мултисистемским испољавањем атопије имаће највише концентрације укупних *IgE* антитела, *ECP-a*, *TSLP -a* и *TGF beta 1*, а најниже концентрације *IL 10*.

2.9. Оквирни садржај дисертације

Више од половине свих случајева астме почиње пре 3. године живота, а 80% пре 6. године. Стога је идентификација алергијских фенотипова у дечијој популацији од значаја је за фокусирање истраживања на узорке и последице у оквиру појединачних патофизиолошких механизма везаних за настанак астме . У више студија је показана повезаност између атопијског дерматитиса и астме, а од могућих механизма ове повезаности наводе се или системски поремећаји имунолошког система, који доводе до изражене *Th2* инфламације или дефекти баријере у кожи и/или слузокожи бронхија који узрокују имунолошку инфламацију при излагању алергену .

Циљ студије је да се дефинишу клинички фенотипови атопијске конституције код деце узраста до 2 године и утврди повезаност серумских нивоа укупних *IgE* антитела, *IL 10*, *ECP-a*, *TGF beta 1*, *TSLP -a* и *CC16* и атопијских фенотипова код деце узраста до 2 године . У аналитичкој студији пресека методом случајног узорка биће укључено најмање 128 деце узраста до две године и то при редовним систематским прегледима, непосредно пре вакцинације или ревакцинације, у тренутку потпуног здравља детета.

Подаци ће се добити анкетирањем родитеља и увидом у медицинску документацију (педијатријски картон). Деца ће бити разврстана у две групе: 1) здрава деца без испољавања симптома и 2) деца која су у периоду од рођења до тренутка испитивања, имала испољавање симптома и знакова који се могу повезати са алергијским болестима ("*allergy like*" симптоми).

Концентрације укупних *IgE* и специфичних *IgE* (*Phadiatop infant*) као и концентрација *ECP-a* у серуму одређиваће се *in vitro FIA* методом на *Immunocap-100* апарату (*Phadia AB, Uppsala, Sweden*). Концентрација биомаркера (*IL 10, TGF beta, TSLP* и *CC16*) одређиваће се у узорцима серума *ELISA* методом.

Очекујемо да деца са атопијом имају повишене концентрације укупних *IgE* антитела и снижену концентрацију *IL 10*, а деца са гастроинтестиналном болешћу повећани серумски ниво *TSLP -a* као показатеља дефекта коже и слузокожа у односу на контролну групу. Деца са атопијском респираторном болешћу у случају постојања рецидивантног визинга имаће и повећање концентрације *TGF beta 1* у односу на контролну групу, док ће деца са неатопијским визингом имати снижене вредности *CC16*. Деца са мултисистемским испољавањем атопије имаће највише концентрације укупних *IgE* антитела, *ECP-a*, *TSLP -a* и *TGF beta 1*.

2.10. Име ментора

За ментора ове докторске тезе Комисија предлаже Доц.др Гордану Костић, доцента на предмету Педијатрија, Факултета медицинских наука, универзитета у Крагујевцу.

2.11 Научна област дисертације

Медицина. Изборно подручје: Имунологија, инфекција и инфламација

2.12 Научна област чланова комисије

1. **Доц. др Марина Петровић**, доцент Медицинског факултета, Универзитета у Крагујевцу, ужа научна област Интерна медицина , председник
2. **Проф. др Снежана Живанчевић**, редовни професор Медицинског факултета Универзитета у Крагујевцу, ужа научна област- Патолошка физиологија, члан
3. **Проф. др Марија Мостарица Стојковић**, редовни професор Медицинског факултета, Универзитета у Београду, ужа научна област-Микробиологија и имунологија, члан
4. **Проф. др Дејан Баскић**, ванредни професор Медицинског факултета, Универзитета у Крагујевцу, ужа научна област- Микробиологија и имунологија, члан
5. **Проф. др Зоран Игрутиновић**, ванредни професор Медицинског факултета, Универзитета у Крагујевцу, ужа научна област- Педијатрија, члан

ЗАКЉУЧАК И ПРЕДЛОГ КОМИСИЈЕ

1. На основу досадашег научног рада и публикованих радова мр. сц. мед. др Невенка Илић испуњава све услове прописане Статутом Медицинског факултета, Статутом Универзитета у Крагујевцу и Законом о високом образовању за одобрење теме и израду докторске дисертације;
2. Предложена тема је научно оправдана, дизајн истраживања је прецизно постављен и дефинисан, методологија је јасна. Ради се о оригиналном научном делу где се испитују биомаркери алергијских фенотишпова код деце узраста до две године
3. Комисија сматра да ће предложена докторска теза бити од особитог научног и практичног значаја, да се дефинишу клинички фенотипови алергијске конституције код деце узраста до две године. ефеката антибиотске терапије и коначног исхода лечења болесника
4. Комисија предлаже Изборном већу Медицинског факултета у Крагујевцу да прихвати пријаву теме докторске дисертације кандидаткиње мр сц. мед. др Невенке Илић под називом „Биомаркери алергијских фенотипова код деце узраста до две године" и одобри њену израду.

ЧЛАНОВИ КОМИСИЈЕ

1. _____
Доц. др Марина Петровић, доцент Медицинског факултета, Универзитета у Крагујевцу, ужа научна област Интерна медицина , председник
2. _____
Проф.др Снежана Живанчевић, редовни професор Медицинског факултета Универзитета у Крагујевцу, ужа научна област- Патолошка физиологија,члан
3. _____
Проф.др Марија Мостарица Стојковић, редовни професор Медицинског факултета, Универзитета у Београду, ужа научна област-Микробиологија и имунологија, члан
4. _____
Проф.др Дејан Баскић, ванредни професор Медицинског факултета, Универзитета у Крагујевцу, ужа научна област- Микробиологија и имунологија, члан
5. _____
Проф.др Зоран Игрутиновић, ванредни професор Медицинског факултета, Универзитета у Крагујевцу, ужа научна област- Педијатрија, члан

У Крагујевцу, 15.11.2011. год.