

УНИВЕРЗИТЕТ У КРАГУЈЕВЦУ
ФАКУЛТЕТ МЕДИЦИНСКИХ НАУКА
НАСТАВНО – НАУЧНОМ ВЕЋУ

УНИВЕРЗИТЕТ У КРАГУЈЕВЦУ
ФАКУЛТЕТ МЕДИЦИНСКИХ НАУКА
НАСТАВНО – НАУЧНОМ ВЕЋУ

23.01.18

Бр. прегледа	Бр. протокола	Прилог
05	677/4-4	

1. Одлука Већа за медицинске науке Универзитета у Крагујевцу

Одлуком Већа за медицинске науке Универзитета у Крагујевцу, број IV-03-1032/20 од 08.11.2017. године, именовани су чланови комисије за оцену научне заснованости теме докторске дисертације кандидата др Никола Јовића под називом: **“Повезаност експресије интерлеукина 1 и интерлеукина 33 са исходом хориоамнионитиса”**.

Чланови комисије су:

1. **Проф. др Александра Димитријевић**, ванредни професор Факултета медицинских наука Универзитета у Крагујевцу за ужу научну област Гинекологија и акушерство, председник;
2. **Проф. др Жељко Миковић**, редовни професор Медицинског факултета Универзитета у Београду за ужу научну област Гинекологија и акушерство, члан;
3. **Проф. др Горан Бабић**, ванредни професор Факултета медицинских наука Универзитета у Крагујевцу за ужу научну област Гинекологија и акушерство, члан;
4. **Проф. др Иван Јовановић**, ванредни професор Факултета медицинских наука Универзитета у Крагујевцу за уже научне области Микробиологија и имунологија и Онкологија, члан;
5. **Проф. др Марија Миловановић**, ванредни професор Факултета медицинских наука Универзитета у Крагујевцу за уже научне области Микробиологија и имунологија и Онкологија, члан;

2. Извештај о оцени научне заснованости теме докторске дисертације

2.1. Кратка биографија кандидата

Др Никола Д. Јовић рођен је 06.09.1987. године у Крагујевцу. Основну школу “Рада Шубакић” у Грузи завршио је 2002. године као носилац дипломе “Вук С. Караџић”. Средњу медицинску школу “Сестре Нинковић” завршио је 2006. године као носилац дипломе “Вук С. Караџић” и дипломе “Сестре Нинковић” као најбољи ученик у генерацији, те је с’ тога био стипендиста Краљевског дома Карађорђевића. На Факултету медицинских наука у Крагујевцу дипломирао је 2012. године са просечном оценом 9,47, након пет година и једанаест месеци студирања. Студент је треће године Докторских академских студија, изборно подручје Хумана репродукција и развој. Положио усмени докторски испит из наведеног подручја 28. септембра 2015. године са оценом 9 (девет).

Од 26.08.2013. до 01.06.2014. године волонтирао на Клиници за гинекологију и акушерство Клиничког центра Крагујевац. Од 01. јуна 2014. године обавља посао

истраживача-приправника на Катедри за гинекологију и акушерство Факултета медицинских наука у Крагујевцу, где активно учествује у извођењу наставе из предмета Гинекологија и акушерство, Гинекологија и акушерство-стручна пракса, Гинекологија и акушерство са негом. 01.08.2017. године заснива стални радни однос на Клиници за гинекологију и акушерство Клиничког центра у Крагујевцу. На четвртој је години специјализације из гинекологије и акушерства.

Био је учесник више домаћих, као и међународног конгреса (и носилац сертификата) о репродуктивном здрављу у организацији Министарства здравља Црне Горе и Европског центра за мир и развој (ЕСРD) УН, 15.-19. септембра 2014. године. Члан је лекарске коморе и Српског лекарског друштва. Познаје рад на рачунару, говори руски, немачки и енглески језик.

2.2. Наслов, предмет и хипотезе докторске дисертације

Наслов: “Повезаност експресије интерлеукина 1 и интерлеукина 33 са исходом хориоамнионитиса”.

Предмет: Испитивање експресије интерлеукина 1 и интерлеукина 33 у две форме хориоамнионитиса који су најчешћи узрочници настанка претерминског порођаја и праћење експресије наведених интерлеукина и стандардних параметара инфламаторног одговора (број леукоцита, концентрација фибриногена и С реактивног протеина - *CRP*-а) у претерминском и терминском порођају.

Хипотезе:

Хипотеза 1. Стандардни параметри инфламаторног процеса (број леукоцита, концентрација фибриногена и С реактивног протеина - *CRP*-а) нису показатељи хроничне хориоамнионалне инфекције.

Хипотеза 2. Претермински порођај је удружен са мањим односом IL-33/IL-1 у ткиву плаценте.

Хипотеза 3. Удруженост мање експресије IL-33 и претерминског порођаја је значајнија у случајевима акутног хориоамнионитиса.

2.3. Испуњеност услова за пријаву теме докторске дисертације

Кандидат је као први аутор објавио један рад у целини у часопису категорије M51 на једном од водећих светских језика, чиме је испунио услов за пријаву докторске дисертације.

Jovic N., Nenadovic Zivanovic A., Varjacic M.: “Characteristics of pregnancy, delivery and postpartum period in pregnant women with diagnosed gestational diabetes mellitus”./ Ser J Exp Clin Res 2016; 17 (2): 133-137. **M51**

2.4. Преглед стања у подручју истраживања

Најчешћи разлог претерминског порођаја (између 25.0 и 36.6 недеље трудноће) везан је за интраутерину инфекцију. Акутни хориоамнионитис, специфичан за рани

претермински порођај, праћен је неутрофилном инфилтрацијом са доказаним микробиолошким агенсима који инфламирају хориоамнионске мембране. Хронични хориоамнионитис се одликује лимфоцитном инфилтрацијом, без јасног микробиолошког агенса.

Интерлеукин 33 (IL-33) члан је IL-1 фамилије цитокина, а спада и у групу „алармина“. IL-33 пореклом из макрофага представља фактор раста плаценте у раној трудноћи. Доказана је нуклеарна експресија IL-33 у васкуларном ендотелу и васкуларном глатком мишићу код претерминског порођаја удруженог са хроничним хориоамнионитисом. Насупрот томе, код акутног хориоамнионитиса IL-33 се детектује и у макрофагима и миофибробластима.

IL-33 спречава претермински порођај стимулацијом В лимфоцита да продукују прогестероном индукован блокирајући фактор 1 (енг. *progesterone induced blocking factor 1* - PIBF1), а такође се његова улога огледа и у инхибицији реакције хроничног одбацивања алографта (у експерименталном моделу).

2.5. Значај и циљ истраживања

Нема података о квантитативној експресији IL-33 у ткиву плаценте, амнионској течности и серуму у току претерминског и терминског порођаја. Такође, нема података о односу IL-1 и IL-33 током претерминског и терминског порођаја. Продукцију оба наведена цитокина покрећу слични стимулуси, али ова два цитокина често имају супротне ефекте.

Циљ нашег рада је да се докаже да у студијској групи испитаница буду повишене вредности испитиваних цитокина као и леукоцита, фибриногена и CRP-а. Такође, очекује се и позитивна корелација између концентрација испитиваних цитокина (интерлеукина 33 и интерлеукина 1) у крви мајке и пупчаника и узорцима ткива концептуса. Овом студијом покушаћемо да докажемо да постоји статистички значајна разлика у експресији испитиваних цитокина, као и стандардних параметара инфламаторног одговора у две форме хориоамнионитиса, као и између студијске и контролне групе.

2.6. Веза истраживања са досадашњим истраживањима

Неутрофилна инфилтрација плаценте, плодових овојака и пупчаника је сигуран доказ акутне инфекције хориоамниона, обзиром да у физиолошким условима не постоји.

Хронични хориоамнионитис се одликује лимфоцитном инфилтрацијом, без јасног микробиолошког агенса, те представља неинфективну, инфламацијску лезију специфичну за касни претермински порођај. Хронични хориоамнионитис је највероватније последица реакције одбацивања алографта. Акутна упала хориоамниона се одликује повећаном експресијом гена CXCL8, а хронична повећаном експресијом гена CXCL9, CXCL10 и CXCL11.

Доказана је нуклеарна експресија IL-33 у васкуларном ендотелу и васкуларном глатком мишићу код претерминског порођаја удруженог са хроничним

хориоамнионитисом. Насупрот томе, код акутног хориоамнионитиса IL-33 се детектује и у макрофагима и миофибробластима.

2.7. Методе истраживања

2.7.1. Врста студије

Истраживање је осмишљено као проспективна и рандомизирана студија.

2.7.2. Популација која се истражује

Испитивањем ће бити обухваћено 100 трудница, подељених у две групе. Прва група ће бити студијска група (С) и чиниће је 50 трудница са претерминским порођајем (25.0 – 36.6 недеља трудноће), рачунајући време од првог дана последње менструације. Другу контролну групу (К) чиниће 50 трудница са терминским порођајем (од 37.0 – 41.6 недеља трудноће). Труднице из обе групе би писаном сагласношћу, добровољно прихватиле да учествују у студији. Наведено испитивање је одобрено од стране Етичког одбора Клиничког центра Крагујевац (број 01/17-4259) и Факултета медицинских наука, Универзитета у Крагујевцу (број 01-12994).

2.7.3. Узорковање

Након спонтане или јатрогене руптуре плозових овојака узимаћемо узорак плодове воде стерилним шприцем из цервикалног канала (до 5 ml), коришћењем посебно конструисаних, стерилних спекулума/екартера. Наведени узорак користићемо за испитивање концентрације цитокина (IL-1 и IL-33) у плодовој води.

Након узимања узорака плодове воде, у истом тренутку узимаћемо брис вагине и грлића материце и наведене узорке слаћемо на микробиолошку анализу.

Трудницама студијске групе узимаћемо два узорка периферне крви (5 ml) из кубиталне вене и два узорка крви (2 ml) из умбиликалне вене унутар првог минута након клемовања пупчаника, стандардном *Vacutainer* методом у хепаринизираним, вакууминизираним епруветама. Један узорак користићемо за стандардна лабораторијска испитивања (број леукоцита, концентрација фибриногена и *CRP*-а), а други за испитивање концентрације цитокина (IL-1, IL-33).

Након порођаја, узимаћемо и комплетни диск плаценте са пупчаном вршцом и плозовим овојцима, које би одложили у посебно конструисане пластичне, хемијски чисте посуде до тренутка достављања.

Исти поступак би се поновио и за испитанице у контролној групи.

Концентрација појединих цитокина и хемокина биће одређивана у периферној крви мајке, крви пупчаника и узорцима плодове воде, као и у постељици, ткиву пупчаника и плозовим овојцима. Концентрације цитокина у серуму одређиваће се комерцијалним ELISA китовима, а ниво леукоцита, фибриногена и *CRP*-а стандардним лабораторијским процедурама. RT-PCR техником ће се испитати да ли постоји разлика у експресији испитиваних цитокина у ткиву плаценте.

2.7.4. Варијабле које се мере у студији

Независне варијабле

1. Претермински порођај (од 25.0 до 36.6 недеља трудноће) и термински порођај (од 37.0 – 41.6 недеља трудноће) – потврђује се клинички, на основу резултата *Bishop* скорa.
2. Клинички критеријуми за започињање порођаја (порођајне контракције на кардиотокографском запису, руптура плодових овојака, адекватан акушерски налаз - *Bishop* скор преко 5).
3. Време трајања порођаја.
4. Паритет.

Зависне варијабле

1. Концентрација IL-1 и IL-33 у плодовој води (амнионској течности) (у студијској и контролној групи).
2. Број леукоцита, концентрација фибриногена и *CRP*-а у серуму добијеном из периферне крви труднице и умбиликалног крвног суда (у студијској и контролној групи).
3. Концентрација IL-1 и IL-33 у серуму добијеном из периферне крви труднице и умбиликалног крвног суда (у студијској и контролној групи).
4. Хистолошки скор који указује на степен инфламације у ткиву плаценте (у студијској и контролној групи).
5. Процент IL-1 и IL-33 позитивних макрофага и ендотелних ћелија у ткиву плаценте (у студијској и контролној групи).
6. Релативна количина mRNA за IL-1, IL-6, IL-33, CXCL8, CXCL9, CXCL10 и CXCL11 у ткиву плаценте, плодових овојака и пупчаника (у студијској и контролној групи).

Збуњујуће варијабле

1. примена друге медикаментозне терапије услед присуства коморбидитета.
2. социо-епидемиолошки подаци и навике испитаница.
3. непредвиђене околности (летални исход плода у току трудноће или у току порођаја, тј. у току трајања испитивања).

2.7.5. Снага студије и величина узорка

Величина узорка израчуната је на основу студије (докторске дисертације) Тасић С. Марије из 2014. године*. Полазећи од чињенице да је IL-33 је експримиран у плаценти у нормалним трудноћама, као и у плацентном ткиву претерминског порођаја удруженог са хроничним хориоамнионитисом, док се код акутног хориоамнионитиса IL-33 се детектује и у макрофагима и миофибробластима, потребна величина узорка за ниво значајности $\alpha=0,05$ и статистичку моћ теста $1-\beta$ од 80% израчуната је потребна величина узорка од 50 испитаника по групи.

**Tasic S. M. The clinical significance of intra-amniotic inflammation in preterm births. Doctoral thesis. University in Nis, Faculty of medicine, Niš, 2014*

2.7.6. Статистичка анализа

Статистичка обрада резултата вршиће се у програму *IBM SPSS Statistic 20* и обухватиће методе дескриптивне статистике и тестирања хипотезе независних узорака. У приказу резултата користиће се мере централне тенденције и мере варијабилитета у складу са типом расподеле. Резултати ће бити приказани и табеларно и графички. Врста статистичких тестова ће бити условљена карактером прикупљених података и типом њихове расподеле. Ниво вероватноће ће бити установљен на $p < 0,05$. За поређење просечних вредности параметарских обележја употребљаваће се неупарени Студентов Т-тест, а за поређење разлике између учесталости код непараметријских података користиће се χ^2 тест. Корелација између параметара инфламаторног процеса и клиничке експресије истог, које резултира претерминском или терминским порођајем биће анализирана бинарном логистичком регресијом, одређивањем количника шансе и интервала поверења.

2.8. Очекивани резултати докторске дисертације

Очекује се да у студијској групи испитаница буду повишене вредности испитиваних цитокина (интерлеукина 1 и интерлеукина 33) као и броја леукоцита, вредности фибриногена и CRP-а. На основу резултата претходних истраживања, вредност интерлеукина 1 је знатно повишена, посебно у акутним формама хориоамнионитиса. Такође, очекује се и позитивна корелација између концентрација испитиваних цитокина (интерлеукина 1 и интерлеукина 33) у крви мајке и пупчане врпце (пупчаника) и узорцима ткива постељице, плодових овојака и пупчане врпце.

2.9. Оквирни садржај дисертације

Овим истраживањем добићемо информације о заступљености хориоамнионитиса као најчешћег разлога претерминског порођаја, учесталости акутне и хроничне форме хориоамнионитиса и разлике у експресији интерлеукина 1 и интерлеукина 33 међу акутним и хроничним хориоамнионитисом, али и међу претерминског и терминског порођаја. Добићемо информације и о промени нивоа стандардних параметара инфламаторног одговора (броја леукоцита, вредности фибриногена и CRP-а) из плодове воде и крви пупчаника и кубиталне вене мајке, као и у хомогенату ткива постељице. Наведене параметре испитиваћемо код трудница код којих је наступио претермински (студијска група) и термински порођај (контролна група).

3. Предлог ментора

Комисија предлаже за ментора докторске дисертације “Повезаност експресије интерлеукина 1 и интерлеукина 33 са исходом хориоамнионитиса” проф. др Мирјану

Варјачић, редовног професора Факултета медицинских наука, Универзитета у Крагујевцу за ужу научну област гинекологија и акушерство. Предложени наставник испуњава услов за ментора докторске дисертације у складу са стандардом 9 за акредитацију студијских програма докторских академских студија на високошколским установама.

3.1. Компетентност ментора

Радови проф. др Мирјане Варјачић који се баве хуманом репродукцијом, перинатологијом и патологијом трудноће:

1. Babic MG Markovic DS, **Varjacic M**, Djordjevic ZN, Nikolic T, Stojic I. & Jakovljevic V.: Estradiol decreases blood pressure in association with redox regulation in preeclampsia. Clinical and Experimental Hypertension, 2017; DOI:10.1080/10641963.2017.1368538. (M23, IF= 1,162)

2. Šošić GM, Sretenović S, **Varjačić M**: Genes polymorphism FV Leiden G1691A, F11G20210A, MTHFR C6771 and PAI-15G/4G in patients with miscarriages and inherited thrombophilia- experience from our clinic. Abstracts / Thrombosis Research 151/ suppl.1(2017) S103-S140. (M22, IF= 2,650)

3. Jakovljević M. and **Varjačić M.**: Commentary: Do health care workforce, population and service provision significantly contribute to the total health expenditure? An econometric analysis of Serbia. Phrontiers in Pharmacology, february 2017, vol.8, Article 033. DOI:10.3389/fphar.2017.00033. (M21a, IF= 4,4)

4. Đukić SM, Leković D., Jović N. and Varjačić M.: Unnecesary Hysterectomy due to Menorrhagia and Disorders of Hemostasi: An Example of Overuse and Excessive Demand for Medical Sevice. Phrontiers in Pharmacology, decembar 2016, vol.7, Article 507. DOI:10.3389/fphar.2016.00507. (M21a, IF= 4,4)

5. Jović N., **Varjačić M.**, Živanović Nanadović A.: Characteristics of pregnancy, delivery and postpartum period in pregnant womendiagnosed with gestational diabetes mellitus. / Ser J Exp Clin Res 2016; 17 (2): 133-137.

4. Научна област докторске дисертације

Медицина. Ужа научна област – хумана репродукција и развој / гинекологија и акушерство.

5. Научна област чланова комисије

1. Проф. др Александра Димитријевић, ванредни професор Факултета медицинских наука Универзитета у Крагујевцу за ужу научну област *Гинекологија и акушерство*, председник;

2. Проф. др Жељко Миковић, редовни професор Медицинског факултета Универзитета у Београду за ужу научну област *Гинекологија и акушерство*, члан;

ЗАКЉУЧАК И ПРЕДЛОГ КОМИСИЈЕ

На основу увида у резултате досадашње научно-истраживачке активности и публиковане радове, Комисија закључује да кандидат **др Никола Јовић** испуњава све услове прописане Статутом факултета и законом о Универзитету за одобрење теме и израду докторске дисертације.

Комисија је утврдила да се ради о оригиналном научном делу које има за циљ да испита ниво експресије интерлеукина 1 и интерлеукина 33 у две форме (акутној и хроничној) хориоамнионитиса. Предложена тема је научно оправдана, дизајн истраживања је прецизно постављен и дефинисан, а методологија је јасна.

Комисија предлаже Наставно-научном већу Факултета медицинских наука Универзитета у Крагујевцу да прихвати тему докторске дисертације кандидата **др Николе Јовића**: “Повезаност експресије интерлеукина 1 и интерлеукина 33 са исходом хориоамнионитиса” и одобри њену израду.

ЧЛАНОВИ КОМИСИЈЕ

1. Проф. др Александра Димитријевић, ванредни професор Факултета медицинских наука Универзитета у Крагујевцу за ужу научну област *Гинекологија и акушерство*, председник;

Aleksandra Dimitrijevic

2. Проф. др Жељко Миковић, редовни професор Медицинског факултета Универзитета у Београду за за ужу научну област *Гинекологија и акушерство*, члан;

Zeljko Mikić

3. Проф. др Горан Бабић, ванредни професор Факултета медицинских наука Универзитета у Крагујевцу за ужу научну област *Гинекологија и акушерство*, члан;

Goran M. Babić
Проф. др сци. мед.
Горан М. Бабић
гинеколоџ - акушер

4. Проф. др Иван Јовановић, ванредни професор Факултета медицинских наука Универзитета у Крагујевцу за уже научне области *Микробиологија и имунологија* и *Онкологија*, члан;

Ivan Jovanović

5. Проф. др Марија Миловановић, ванредни професор Факултета медицинских наука Универзитета у Крагујевцу за уже научне области *Микробиологија и имунологија* и *Онкологија*, члан;

Marija Milovanović

У Крагујевцу, 28. новембра 2017. године