

**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-03-773/17 од 13.10.2021. године, именовани су чланови комисије за оцену и одбрану завршене докторске дисертације кандидата др Драгане Гојков под називом:

**“Утицај термина инактивације патогена применом рибофлавина и ултравиолетног озрачења на интегритет конституената плазме у замрзнутој свежој плазми“**

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

1. Проф. др Небојша Н. Арсенијевић, редовни професор Факултета медицинских наука у Крагујевцу за уже научне области Микробиологија и имунологија; Онкологија, председник;
2. Проф. др Данило Војводић, редовни професор Медицинског факултета Војномедицинске академије Универзитета одбране у Београду за ужу научну област Имунологија, члан;
3. Проф. Др Бела Балинт, дописни члан САНУ, научни саветник, редовни професор Медицинског факултета Војномедицинске академије Универзитета одбране у Београду за ужу научну област Трансфузиологија и експериментална хематологија, члан.

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

**ИЗВЕШТАЈ**

**2.1 Значај и допринос докторске дисертације са становишта актуелног стања у одређеној научној области**

Докторска дисертација кандидата др Драгане Гојков под називом “Утицај термина инактивације патогена применом рибофлавина и ултравиолетног озрачења на интегритет конституената плазме у замрзнутој свежој плазми“ урађена под менторством проф. др Душана Вучетића, ванредног професора Медицинског факултета ВМА Универзитета одбране у Београду за ужу научну област Трансфузиологија, представља оригиналну научну студију, која се бави утврђивањем утицаја инактивације патогена применом рибофлавина и ултравиолетног озрачења на интегритет конституената

плазме у замрзнутој свежој плазми, а у односу на време примене третмана. Плазма је течни део крви који се из целе крви издваја након центрифугирања или поступком аферезе. У воденој фази растворене су различите соли, нутријенти, отпадни продукти метаболизма, пептиди, ензими, хормони и више од 1000 различитих протеина. Када се плазма издвоји и замрзне најкасније 8 сати од узимања крви од даваоца, означава се као замрзнута свежа плазма (ЗСП).

ЗСП се користе преоперативно или код крварећих пацијената, за надокнаду више фактора коагулације чији се недостатак најчешће виђа код болести јетре, трансплантације јетре и дисеминоване интраваскуларне коагулације (DIC) - потрошне коагулопатије изазване малигнитетом, инфекцијом, траумом или компликацијом трудноће. Такође се користи за надокнаду фактора коагулације код урођених и стечених коагулопатија када специфични фактор коагулације није доступан. Користи се код масивне трансфузије, обично у односу еритроцити:ЗСП 1:1, због дилуционог ефекта масивне трансфузије, за корекцију предозирања warfarin-ом или другим витамин К антагонистима, а ЗСП или ЗСП сиромашна у криопреципитату се користи за измену плазме и надокнаду код тромботске тромбоцитопенијске пурпуре (ТТП) где се изменом плазме отклањају аутоантитела, а надокнадом обезбеђује извор металопротеиназе ADAMTS13 која цепа веома велике молекуле WVF. ЗСП се, такође, даје као надокнада код ретких стања недостатка специфичних плазма протеина.

ЗСП се користи и за корекцију хипопротеинемије, имунодефицијенције или у нутритивне сврхе што није оправдана употреба јер за ове индикације постоје пречишћени концентровани препарати.

Данас је, такође, веома актуелна примена реконвалесцентне плазме у лечењу болесника са COVID-19 инфекцијом.

Сваки патогени агенс који се може наћи у циркулацији током своје асимптоматске фазе, представља ризик за трансмисију преко крви и крвних продуката. Највећа опасност данас прети од зооноза: маларија, dengue, Chikungunya, Zika, WNV-изазван менингоенцефалитис, бабезиоза (*Babesia microti*), ерлихиоза (*Ehrlichia*), Colorado крпељска грозница, Шагасова болест (*Trypanosoma cruzi*), а вероватно и Лајмска болест (*Borrelia burgdorferi*), висцерална лајшманијаза (*Leishmania*) и flavivirus-ом изазван енцефалитис. Ризик, такође, представљају и human herpesvirus (HHV)-8, узрочник Капошијевог саркома, cytomegalovirus (CMV), parvovirus B-19 (PVB-19), хумани папилома вирус. По Закону, у Републици Србији свака јединица дониране крви се испитује на присуство вируса хепатитиса В, С, HIV-а (Human immunodeficiency virus) и луеса, тј. *Treponema pallidum* (присуства антитела на ову спирохету).

„Инактивација патогена“ и „редукција патогена“ (PI/PR) су термини који се равноправно користе у стручној литератури и представља проактиван приступ у обезбеђивању што сигурније крви и продуката од крви, у погледу инфекција преносивих и трансфузијом. Технологије инактивације патогена нуде третман против широког спектра потенцијалних патогена (бактерија, вируса и паразита) у крви и крвним продуктима. Ове технологије циљају и оштећују нуклеинске киселине (DNK и RNK) у патогенима чиме се спречава њихова репродукција. Ово ефикасно уништава способност патогена да изазове болест. Различите PI/PR методе, такође, имају различит утицај на количину/функцију протеина у плазми. RB/UV метода има учинак на факторе коагулације у смислу њиховог снижења, те је просечан проценат опоравка активности за фибриноген 77%, за FII 80%, FVIII 75%, а

FV 73%. Опоравак инхибитора коагулације је знатно бољи - више од 90%. Количина антитела након RB/UV третмана је нешто мања али у границама референтних вредности. Увођењем и усавршавањем сопственог протокола за инактивацију јединица ЗСП, уз квантификацију посматраних обележја – биохемијских, хемостазних и имунских параметара и поређењем резултата добијених по нашем протоколу накнадне инактивације са резултатима добијеним стандардном методом претходне инактивације, као и са критеријумима предвиђеним упутствима и правилницима за контролу квалитета, постигли бисмо рационалну инактивацију ЗСП према крвној групи пацијента коме је у том тренутку потребна.

## **2.2 Оцена да је урађена докторска дисертација резултат оригиналног научног рада кандидата у одговарајућој научној области**

На основу доступне литературе, прикупљене детаљним и систематским претраживањем биомедицинских база података „ Medline“, „Pub Med“ и „KoBSON“ употребом кључних речи: „претходна инактивација плазме“, „накнадна инактивација плазме“, „рибофлавин и ултравиолетно озрачење“ нису пронађене студије идентичног дизајна и методолошког приступа, чиме ова студија добија на значају и оригиналности.

На основу тога, Комисија констатује да је докторска дисертација кандидата др Драгане Гојков под називом **“Утицај термина инактивације патогена применом рибофлавина и ултравиолетног озрачења на интегритет конституената плазме у замрзнутој свежој плазми“** представља резултат оригиналног научног рада.

## **2.3 Преглед остварених резултата рада кандидата у одређеној научној области**

### **А. Лични подаци**

Др Драгана Гојков рођена је 23.07.1967. године у Новом Саду, где после завршене средње природно-математичке гимназије, смер биологија, уписује студије медицине на Факултету медицинских наука, Универзитета у Новом Саду, а које завршава на Факултету медицинских наука, Универзитета у Београду, 1996. године са просечном оценом 8,58 и стиче звање доктора медицине. После три године рада у Општој пракси, 2000. године уписује специјализацију из Трансфузиологије на Војномедицинској академији, а 2003, полаже специјалистички испит са оценом 5 и стиче звање специјалисте трансфузијске медицине. Од тада ради у Институту за трансфузиологију ВМА. Докторске академске студије уписује 2008/9. године, изборно подручје Имунологија, инфекција и инфламација, на Факултету медицинских наука, Универзитета у Крагујевцу. Усмени докторски испит положила 2009. године са оценом 9.

### **Б. Списак објављених радова (прописани минимални услов за одбрану докторске дисертације)**

1. **Gojkov D, Balint B, Dejanović B, Vučetić D.** Influence of riboflavin and uv-light treatment on plasma's protein protein s and  $\alpha$ 2-antiplasmin; the matter of time. *Vojnosanit Pregl.* 2021. doi: 10.2298/VSP210315051G. **M23**

2. Balint B, Jovicic D, Todorovic M, Subota V, Pavlovic M, Goodrich R. Plasma constituent integrity in pre-storage vs. post-storage riboflavin and UV-light treatment – a comparative study. *Transf Apher Sci* 2013;49:434-9. **M23**
3. Gojkov D, Borovčanin N, Vučetić D. Sterility testing of platelets concentrate within quality control: experiences and opportunities to extend the application. *Ser J Exp Clin Res*. 2020; doi:10.2478/sjecr-2020-0014. **M51**

#### 2.4 Оцена о испуњености обима и квалитета у односу на пријављену тему

Наслов докторске дисертације и урађеног истраживања се поклапају. Докторска дисертација др Драгане Гојков, написана је на 79 страна и садржи следећа поглавља: Сажетак, Увод, Циљеви и хипотезе студије, Материјал и методе, Резултати, Дискусија, Закључци и Литература. Рад садржи 31 графикон и 1 табелу, док је у поглављу „Литература“ цитирано 106 библиографских јединица из домаћих и иностраних стручних публикација.

У уводном делу кандидат је веома опсежно, јасно и прецизно, користећи савремене литературне и историјске податке изложио сазнања о клиничкој примени ЗСП, могућностима трансмисије инфективних агенаса преносивих и трансфузијом, актуелним превентивним мерама и савременим проактивним приступом у спречавању трансмисије. Циљеви истраживања и хипотеза јасно и прецизно су дефинисани у складу са одобреним у пријави тезе. Главни циљеви су квантификовати у узорцима плазме дефинисана обележја посматрања – биохемијске, хемостатске и имунске параметре пре и после третмана и упоредити резултате у оквиру сваке групе; упоредити резултате мултилабораторијских испитивања након примене стандардне методе – претходна инактивација са резултатима добијеним модификованом методом – накнадна инактивација у односу на садржај и функционалну очуваност протеина у ЗСП, као и утврдити да ли ЗСП третирана поступком накнадне инактивације задовољава критеријуме предвиђене упутствима и правилницима за контролу квалитета.

На основу досадашњих сазнања о процедурама третирања хемопродуката ради редукције/инактивације патогена и Le – претпоставља се да би поступак накнадне инактивације (НИ) плазме применом рибофлавина и УВ озрачења резултовао очувањем квалитета ЗСП, пре свега очувањем терапијски ефективних концентрација стимулатора и инхибитора коагулације у поређењу са контролом. Извођењем процедуре НИ плазме била би омогућена примена овог PR/PI третмана и на карантинску плазму, третирање великих количина плазме одређене крвне групе која је потребна у датом времену и за одређеног болесника. Тиме би било олакшано и обезбеђивање довољних количина инактивисане плазме, са једне стране, а са друге би се постигла и значајна економска уштеда јер би се инактивисале само оне неопходне, а не целокупна количина плазме. Такође, избегао би се ризик, односно финансијски трошак, да се инактивише плазма позитивна на неки од маркера трансфузијом преносивих инфекција (резултати су доступни тек наредни дан у односу на време инактивације).

Испитивањем је обухваћена ЗСП припремљена из јединица целе крви (30 јединица за експерименталну и 30 јединица за контролну групу) од небираних здравих давалаца, узраста 18–65 година. Експериментална крв је изведена према упутству произвођача пластичних кеса. Крв у волумену од 450±45ml прикупљена је у основну кесу четвороделног система пластичних кеса (Macopharma, Француска), која садржи 63ml антикоагулантно–

конзервишућег раствора CPD. Даваоци су били нереактивни на хепатитис В и С вирус, HIV и Syphilis. Такође, су задовољавали клиничке и лабораторијске налазе потребне за добровољно давање крви и нису имали коагулопатије у анамнези. Након центрифугирања, урађена је сепарација крви на плазму, buffy coat и концентроване еритроците. Из јединица плазме које чине контролну групу, узорци (10ml) су узети а) одмах после сепарације (иницијални узорак-КГ, или аутоконтрола КГ) и б) после третмана системом Mirasol-PRT (узорак I КГ), у епрувете од инертне пластике без додатих прокоагулантних или антикоагулантних агенаса. Пре лабораторијског испитивања узорци су били на температури од  $20\pm 2^{\circ}\text{C}$  током трајања процеса илуминације. Инактивисане јединице плазме су биле замрзнуте брзим замрзавњем на  $-60^{\circ}\text{C}$  и складиштене на  $-38^{\circ}\text{C}$  до периода ц) одмрзавања и тестирања ( узорак II КГ). Јединице плазме које чине експерименталну групу су тестиране (из 10ml узорка) а) одмах после сепарације из јединице целе крви (иницијални узорак ЕГ или аутоконтрола ЕГ) и одмах замрзнуте брзим замрзавњем на  $-60^{\circ}\text{C}$ , а затим складиштене на  $-38^{\circ}\text{C}$  до периода одмрзавања. Након два месеца, плазма је одмрзнута, б) узет је узорак (узорак I ЕГ), а затим су јединице ЗСП третиране системом Mirasol-PRT, после чега је ц) узет још један узорак (узорак II ЕГ). Узорак I ЕГ био је на температури од  $20\pm 2^{\circ}\text{C}$  током трајања илуминације, а затим су узорци тестирани на испитиване параметре. Сам поступак инактивације је изведен стандардним протоколом система Mirasol-PRT. Коришћењем мулти-лабораторијске технике и опреме, одређени су различити параметри квалитета плазме: биохемијски параметри: уреа, креатинин (Cr), укупни билирубин (TB), триглицериди (Tgl), холестерол (Chol), калијум (K), натријум (Na), гвожђе (Fe), аспарат-аминотрансфераза (AST), аланин-аминотрансфераза (ALT), гама глутамил-трансфераза (GGT), лактат-деhidрогеназа (LDH) и осмотски притисак (Osm-P); протеини (укупни), албумини, имуноглобулини IgM, IgG и IgA, као и ниво компонената комплемента C3 и C4 и CH50 активност; прокоагулантни (FII, FV, FVII, FVIII, FIX, FX) и инхибиторни (antithrombin-III (AT-III), протеин C (PC), протеин S (PS) и  $\alpha 2$ -антиплазмин ( $\alpha 2$ -AP) ) фактори.

Добијени резултати показују да концентрација различитих плазма конституената, тзв „проширена биохемија“ пада у обе групе, осим креатинина, триглицерида, AST, K, Na и осмотског притиска; да је опоравак протеина приближно исти у обе групе, а опоравак имуноглобулина бољи након примене протокола накнадне инактивације; да је опоравак прокоагулантних фактора II, V, VII и VIII бољи након примене протокола накнадне инактивације, а лошији за факторе IX и X; да је опоравак природних инхибитора коагулације бољи након примене протокола накнадне инактивације.

У поглављу дискусија детаљно су објашњени резултати истраживања, у светлу досадашњих истраживања, редоследом којим су изложени у претходном поглављу. Коментари добијених резултата су јасни, а начин приказивања података чини их прегледним и разумљивим. У поглављу литература кандидат је прецизно навео сву литературу коришћену у припреми и реализацији овог истраживања. Литература садржи 106 библиографске јединице из домаћих и иностраних стручних публикација.

На основу претходно изнетих чињеница, комисија сматра да завршена докторска дисертација кандидата др Драгане Гојков под насловом **“Утицај термина инактивације патогена применом рибофлавина и ултравиолетног озрачења на интегритет конституената плазме у замрзнутој свежој плазми”** по обиму и квалитету израде у потпуности одговара пријављеној теми дисертације.

## 2.5 Научни резултати докторске дисертације

Најзначајни резултати спроведеног истраживања садржани су у следећим закључцима:

1. Квантификавањем биохемијских, хемостазних и имунских параметара Mirasol-PRT, утврдили смо да сем неких биохемијских (креатинин, триглицериди, AST, K, Na, осмотски притисак), долази до пада свих испитиваних параметара у обе групе.
2. Упоређивањем резултата добијених накнадним третирањем плазме са резултатима добијеним стандардним, претходним третирањем плазме утврдили смо да је опоравак протеина у односу на почетне вредности приближно исти у обе групе; да је опоравак имуноглобулина бољи након примене протокола накнадне инактивације; да је опоравак прокоагулантних фактора II, V, VII и VIII бољи након примене протокола накнадне инактивације, а лошији за факторе IX и X; да је опоравак природних инхибитора коагулације бољи након примене протокола накнадне инактивације.
3. Плазма третирана поступком накнадне инактивације задовољава критеријуме за контролу квалитета за инактивисану плазму.
4. Применом протокола накнадне инактивације плазме можемо у датом времену обезбедити потребну количину ЗСП одређене крвне групе, према захтевима са клиника.
5. Применом протокола накнадне инактивације можемо остварити новчану уштеду јер нећемо инактивисати плазму која, потенцијално, неће бити искоришћена и, нећемо инактивисати плазму која би могла бити позитивна на неки од маркера ТТ1.

## 2.6. Применљивост и користност резултата у теорији и пракси

Извођењем процедуре накнадне инактивације плазме применом рибофлавина и УВ озрачења системом Mirasol-PRT била би омогућена примена овог PR/PI третмана и на карантинску плазму, третирање великих количина плазме одређене крвне групе која је потребна у датом времену и за одређеног болесника. Тиме би било олакшано и обезбеђивање довољних количина инактивисане плазме, са једне стране, а са друге би се постигла и значајна економска уштеда јер би се инактивисале само оне неопходне, а не целокупна количина плазме. Такође, избегао би се ризик, односно финансијски трошак, да се инактивише плазма позитивна на неки од маркера ТТ1 (резултати су доступни тек наредни дан у односу на време инактивације).

## 2.7 Начин презентирања резултата научној јавности

Резултати ове студије публиковани су као оригинално истраживање у часопису индексираном на SCI листи:

**Gojkov D, Balint B, Dejanović B, Vučetić D.** Influence of riboflavin and uv-light treatment on plasma's protein protein s and  $\alpha$ 2-antiplasmin; the matter of time. *Vojnosanit Pregl.* 2021. doi: 10.2298/VSP210315051G. **M23**

## ЗАКЉУЧАК

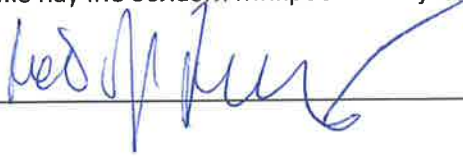
Комисија за оцену и одбрану завршене докторске дисертације кандидата др Драгане Гојков, под називом **“Утицај термина инактивације патогена применом рибофлавина и ултравиолетног зрачења на интегритет конституената плазме у замрзнутој свежој плазми”** сматра да је истраживање у оквиру тезе базирано на актуелним сазнањима и валидној методологији и да је прецизно и адекватно постављено и спроведено.

Комисија сматра да докторска дисертација кандидата др Драгане Гојков под менторством Проф. др Душана Вучетића, представља оригинални научни допринос у примени проактивних приступа у циљу обезбеђивања што сигурније крви и њених продуката у погледу и трансфузијом преносивих инфекција.

Комисија са задовољством предлаже Наставно-научном већу, Факултета медицинских наука Универзитета у Крагујевцу да докторска дисертација под насловом **“Утицај термина инактивације патогена применом рибофлавина и ултравиолетног зрачења на интегритет конституената плазме у замрзнутој свежој плазми”** кандидата др Драгане Гојков буде позитивно оцењена и одобрена за јавну одбрану.


## ЧЛАНОВИ КОМИСИЈЕ

1. **Проф. др Небојша Н. Арсенијевић**, редовни професор Факултета медицинских наука у Крагујевцу за уже научне области Микробиологија и имунологија; Онкологија, председник;



---

2. **Проф. др Данило Војводић**, редовни професор Медицинског факултета Војномедицинске академије Универзитета одбране у Београду за ужу научну област Имунологија, члан;



---

3. **Академик проф. др Бела Балинт**, научни саветник, редовни професор Медицинског факултета Војномедицинске академије Универзитета одбране у Београду за ужу научну област Трансфузиологија и експериментална хематологија, члан.



---

У Крагујевцу, 2021. године