

ОБРАЗАЦ 6

НАСТАВНО-НАУЧНОМ ВЕЋУ 05 4937
ФАКУЛТЕТА МЕДИЦИНСКИХ НАУКА У КРАГУЈЕВЦУ

22. 04. 2024

и

ВЕЋУ ЗА МЕДИЦИНСКЕ НАУКЕ
УНИВЕРЗИТЕТА У КРАГУЈЕВЦУ

На седници Већа за медицинске науке Универзитета у Крагујевцу одржаној 19.2.2024. године (број одлуке: IV-03-09/18) одређени смо за чланове Комисије за оцену и одбрану докторске дисертације под насловом: „Клинички значај одређивања концентрације фекалног калпротектина код превремено рођене деце”, кандидата Јелене Цековић Ђорђевић, студента докторских академских студија Факултета медицинских наука, за коју је именован ментор проф. др Александра Симовић, ванредни професор.

На основу података којима располажемо достављамо следећи:

ИЗВЕШТАЈ

О ОЦЕНИ УРАЂЕНЕ ДОКТОРСКЕ ДИСЕРТАЦИЈЕ

1. Подаци о докторској дисертацији
1.1. Наслов докторске дисертације:
Клинички значај одређивања концентрације фекалног калпротектина код превремено рођене деце
1.2. Опис докторске дисертације (навести кратак садржај са знаком броја страница, поглавља, слика, шема, графикона, једначина и референци) (до 500 карактера):
Ова докторска дисертација написана је на 104 странице и садржи 6 поглавља. Резултати су приказани у виду 30 табела и 15 слика, цитирано је 213 референци. Циљ ове студије је валидација фекалног калпротектина (ФКП), као раног и неинвазивног скрининг теста неонаталне ентеропатије и пружање додатних информација о утицају перинаталних фактора на његове вредности.
1.3. Опис предмета истраживања (до 500 карактера):
Предмет овог истраживања је утврђивање просечних вредности калпротектина у меконијалној столици здраве, терминске и претерминске новорођенчади, без гастроинтестиналних аномалија и других болести, (осим оних у склопу прематуритета). Фокус је стављен на испитивање утицаја: матерналних, феталних и постнаталних фактора на излучивање ФКП-а; ране суплементације бактеријским сојем <i>Lactobacillus rhamnosus-GG</i> на смањење интестиналне инфламације и одређивање предиктивних вредности ФКП-а за извесне клиничке ентитете од значаја.

1.4. Анализа испуњености полазних хипотеза:

Полазне хипотезе ове студије су следеће:

1. Демографске карактеристике испитаника (пол, гестацијска старост, телесна тежина при рођењу, начин завршетка порођаја и постнатална старост) неће значајније утицати на меконијалне вредности калпротектина.

Резултати спроведене студије пружају значајне увиде у однос између демографских карактеристика испитаника и нивоа ФКП-а. Посматрано понаособ, у популацији здраве, терминске новорођенчади, као и претерминске новорођенчади на средње вредности ФКП-а, у првим данима живота нису утицали телесна тежина, гестацијска или постнатална старост и начин завршетка порођаја. Новорођенчад женског пола су имала сигнификантно веће вредности ФКП-а, у односу на мушки пол, али је пол представљао збуњујућу варијаблу, због корелације женског пола са мањом телесном тежином, при рођењу и чешће отвореним дуктус артериозусом. Када су испитаници збирно посматрани, у субпопулацији превремено рођене деце веома мале телесне тежине, при рођењу (≤ 31 гестацијских недеља и <1500 грама) забележене су значајно веће вредности ФКП-а, у односу на здраву, терминску новорођенчад, што указује да субпопулација веома незреле деце има највећу предиспозицију за развој интестиналног дистреса/инфламације.

2. Болести мајке и пре/постнатална примена антибиотика неће значајније утицати на фекалне концентрације калпротектина, док ће перинатална асфиксија, интолеранција ентералне исхране и инфламација/инфекција представљати ризикофакторе за пораст вредности ФКП-а

Болести мајке, антенатална примена антибиотика и друга терапија дата у циљу пренаталне заштите новорођенчета не утичу значајно на вредности ФКП-а, тј. ова стања не играју значајну улогу у физиологији гастроинтестиналног система новорођенчета. Супротно томе, истраживање приказано у дисертацији је утврдило да интраутерусни застој у расту, хемодинамски значајан дуктус артериозус, интолеранција ентералне исхране и синдром инфламаторног одговора представљају значајне ризикофакторе за развој интестиналног дистреса/инфламације, што се реперкутује порастом ФКП-а. Ови налази подржавају дефинисану хипотезу и наглашавају важност размишљања о биолошким механизмима који повезују ова стања, са здрављем гастроинтестиналног тракта новорођенчета. Фетална асфиксија може имати штетне ефекте на интестинални тракт новорођенчета доводећи до повећане пропустљивости цревног епитела и снажног инфламаторног одговора, који директно утиче на нивое ФКП-а, у првим данима живота. Хемодинамски значајан дуктус артериозус (хзДА), поред незрелости такође, доприноси порасту ФКП-а. То се може објаснити присутним запаљењем, које стимулише активацију циклооксигеназе 2 и синтезу простагландина, што погодује перзистирању хзДА. Са друге стране, само перзистирање хзДА, због познатог утицаја феномена „крађе“ на системску циркулацију може погоршати већ постојећу цревну исхемију.

3. Превремено рођена деца на суплементацији пробиотиком имаће мање вредности ФКП-а и бољу толеранцију ентералне исхране, у односу на испитанике који су примали плацебо.

Приказани резултати истраживања представљају значајан увид у потенцијалну корист од ране суплементације пробиотиком, код превремено рођене деце. Кроз дисертацију је уочено да су превремено рођена деца у првој недељи живота имала стабилан ниво меконијалног калпротектина, који није зависио од узраста. У трећој недељи живота, уочен је значајан пад вредности ФКП-а, у обе посматране групе (са и без суплементације пробиотиком). То указује на могућу везу између „решавања“ феталног дистреса, смањења пропустљивости цревне баријере, са сазревањем црева и успостављања бактеријске колонизације црева. Многе предности давања пробиотика и других биолошки активних супстанци, код превремено рођене деце су углавном недовољно доказане. Резултати ове докторске дисертације указују да након двонедељне суплементација пробиотиком, који садржи бактеријски сој *Lactobacillus rhamnosus GG*, (уз додатак цинка и витамина Д3) долази до сигнификантног смањења вредности ФКП-а, али не и

учесталости интолеранције ентералне исхране или НЕК-а. Добијени резултати указују да рана примена пробиотика, у популацији превремено рођене деце није повезана са порастом нежељених ефеката, у смислу повећања интолеранције ентералне исхране или акутног НЕК-а, али ни са значајнијим клиничким бенефитом, на шта указују и најновије строго контролисане студије. Нажалост, због малог броја испитаника са акутним НЕК-ом (8/143) не могу се извести сигурни закључци. Обнављање „здраве“ цревне микробиоте, може помоћи у ублажавању ентералне дисбиозе и смањењу цревне упале, на шта указује значајан пад вредности ФКП-а, који позитивно корелира са применом пробиотика, код превремено рођене деце на адаптираној млечној формули и пролонгираној антибиотској терапији, широког спектра.

1.5.Анализа примењених метода истраживања:

Методолошки приступ истраживања је детаљно описан и усаглашен са циљевима и хипотезама студије. Истраживање је обухватило различите аспекте здравља новорођенчади, укључујући гестациску старост, присуство придружених болести мајке и новорођенчета, као и примењену терапију, како би се добили што репрезентативнији резултати.

У групи превремено рођене деце фокус је стављен на веома незрелу децу, са посебним освртом на интолеранцију ентералне исхране и НЕК, као и на рану, профилактичку суплементацију превремено рођене деце, бактеријским сојем *Lactobacillus rhamnosus-GG*. То је омогућило детаљну анализу перинаталних фактора, који могу утицати на излучивање ФКП-а и одређивање предиктивних вредности ФКП-а, за поменуте клиничке ентитете. Контролну групу су чинила, здрава терминска новорођенчад, што је било битно за искључење прематуритета, као значајног перинаталног фактора и за одређивање референтних вредности ФКП-а, у овој популацији.

У истраживању је коришћена детаљна методологија за анализу биохемијских маркера, укључујући маркере системске и локалне (интестиналне) инфламације, што је обезбедило детаљност и репрезентативност резултата. Концентрација ФКП-а анализирана је код свих 207 испитаника (143 претерминске и 64 терминске новорођенчади) из прве спонтане, меконијалне столице. Квантитативна анализа ФКП-а је вршена на тестовима Алегриа уређаја (24 Алегриа® тест траке са опсегом од 0 - 1000 µg/g фецеса), извођењем ЕЛИСА теста.

За анализу основних клиничких карактеристика испитаника коришћена је дескриптивна статистика-аритметичка средина, стандардна девијација и проценти. За приказивање средњих вредности биохемијских маркера и варијабли, чија расподела није била нормална коришћена је дескриптивна статистика-медијана, квартили и проценти. За поређење средњих вредности варијабли две популације примењен је *Mann-Whitney* тест, а за поређење средњих вредности варијабли више популација *Kruskal-Wallis* тест. Корелација два нумеричка обележја испитивана је помоћу *Spearman*-овог коефицијента корелације. За испитивање утицаја једне или више варијабли на једну бинарну варијаблу коришћена је униваријантна и мултиваријантна бинарна логистичка регресија. Да ли је нека нумеричка варијабла погодна да буде маркер испитивано је помоћу *ROC* кривих.

1.6.Анализа испуњености циља истраживања:

Сви постављени циљеви докторске дисертације у потпуности су испуњени. Први циљ је био одређивање референтног ранга ФКП-а у популацији претерминске и терминске новорођенчади, без знакова гастроинтестиналних обољења. Нису уочене значајне разлике у расподели вредности меконијалног калпротектина, између популација претерминске и терминске новорођенчади. Средње вредности ФКП-а у обе популације биле су ниже од очекиваних, што се вероватно може приписати самим перформансама коришћеног теста.

Други циљ је био утврђивање перинаталних фактора који могу утицати на излучивање ФКП-а, у меконијалној столици. Користећи статистичке методе, кроз истраживање су идентификовани различити перинатални фактори, који имају значајан утицај на нивое ФКП-а, што пружа важне увиде у механизме излучивања калпротектина, у меконијалну столицу. Трећи циљ је био

испитивање протективног утицаја суплементације пробиотиком у субпопулацију превремено рођене деце, храњене искључиво специјално адаптираном млечном формулом. На основу резултата студије показано је да суплементација пробиотиком смањује цревну упалу, што је потврђено значајним смањењем иницијалних вредности ФКП-а, по завршетку двонедељне суплементације, уз истовремену везу између ФКП-вредности и примене пробиотика, као и у ублажавању ентералне дисбиозе, код превремено рођене деце на пролонгираној антибиотској терапији. То може имати важне клиничке импликације за превремено рођену децу и њихов здравствени исход. Сви постављени циљеви су у потпуности испуњени.

1.7. Анализа добијених резултата истраживања и списак објављених научних радова кандидата из докторске дисертације (аутори, наслов рада, волумен, година објављивања, странице од-до, DOI број¹, категорија):

Референтни ранг за ФКП, у субпопулацији претерминске и здраве, терминске новорођенчади, услед велике интер- и интра- индивидуалне варијабилности у излучивању ФКП-а показао је широк опсег, што може утицати на клиничку релевантност овог биомаркера.

Средња вредност меконијалног калпротектина, у популацији претерминске новорођенчади, (просечне гестациске старости $32,44 \pm 2,34$ недеље; просечне телесне тежине при рођењу $1815,35 \pm 434,63$ g и постнаталне старости $2,664 \pm 0,963$ дана) износила је $76,47 \pm 176,05$ $\mu\text{g/g}$ (IQR = 41,7; од минимално 0,1 до максимално 1000 $\mu\text{g/g}$ фецеса).

Средња вредност ФКП-а у популацији здраве, терминске новорођенчади, (просечне гестациске старости $39,141 \pm 1,09$ недеља; телесне тежине при рођењу $3390 \pm 418,94$ g и постнаталне старости $2,125 \pm 0,934$ дана) износила је $85,297 \pm 110,371$ $\mu\text{g/g}$ фецеса (IQR = 86,3 од минимално 0,1 до максимално 511,0 $\mu\text{g/g}$).

Средња вредност ФКП-а, у првој недељи живота била је стабилна и није варијала, у зависности од узраста.

Телесна тежина при рођењу, гестациска старост, начин завршетка порођаја, Апгар скор у 5-ом минути и тип исхране нису значајно утицали на вредности ФКП-а.

Матерналне болести, пренатална употреба антибиотика, кортикостероида и других лекова није значајно утицала на вредности ФКП-а.

Вредности ФКП-а су позитивно корелирале са (компензаторним) порастом бикарбоната, насталим у склопу повраћања или респираторне инсуфицијенције, док рН, базни ексцес, парцијални притисак кисеоника ($p\text{O}_2$) и угљен-диоксида ($p\text{CO}_2$) нису значајније утицали на његове вредности.

На вредности ФКП-а нису утицали хематолошки и биохемијски статус, позитивност налаза хемокултуре, као ни опште кондиционо стање новорођенчета.

Значајно виши ниво ФКП-а детектован је код новорођенчади женског пола ($p=0,003$), са интраутерусним застојем у расту ($p=0,043$) и хемодинамски значајним дуктус артериозусом ($p=0,025$).

Рана постнатална употреба антибиотика широког спектра ($p=0,040$), у условима негативних хемокултура, корелирала је са значајним порастом ФКП-а, у првим данима живота, услед настанка ентералне дисбиозе.

Значајно виши нивои ФКП-а (медијана 35,9; IQR 70,3 $\mu\text{g/g}$) детектовани су код испитаника са интолеранцијом ентералне исхране (повраћањем), у поређењу са испитаницима који су толерисали рано увођење ентералне исхране (медијана 20,2; IQR 30,2 $\mu\text{g/g}$; $p=0,038$).

У трећој недељи живота, уочено је значајно смањење ФКП-нивоа, код превремено рођене деце храњене искључиво адаптираном млечном формулом, која су била на пролонгираној

¹ Уколико публикација нема DOI број уписати ISSN и ISBN

антибиотској терапији, у односу на иницијалну ФКП-вредност, што се може тумачити „решавањем“ феталног дистреса, сазревањем црева и тиме мањом пропусношћу цревног епитела и утицајем пролонгиране употребе антибиотика на цревну микробиоту.

У групи превремено рођене деце на пролонгираној антибиотској терапији, по завршетку двонедељне суплементације бактеријским сојем *Lactobacillus Rammhoss-GG*, поновљене ФКП-вредности су биле значајно мање и позитивно корелирала са применом пробиотика, па се добијени резултати могу повезати са смањењем интестиналне инфламације и обнављањем „здраве“ цревне микробиоте.

Пораст ФКП-а у трећој недељи живота $\geq 38.9 \mu\text{g/g}$ са сензитивношћу од 85,7% и специфичношћу од 57,8% (негативна предиктивна вредност 0,987 и позитивна предиктивна вредност 0,875) може указати на прогресију интестиналног дистреса и предвидети развој НЕК-а, у популацији превремено рођене деце.

Пораст Ц-реактивног протеина, у првих 5 дана живота $\geq 51.55 \text{ mg/L}$, са сензитивношћу од 75% и специфичношћу од 97% (негативна предиктивна вредност 0,98 и позитивна предиктивна вредност 0,096) може да предвиди акутни НЕК.

У целини, добијени резултати пружају значајан увид у комплексне факторе који могу утицати на нивое фекалног калпротеина, у популацији новорођене деце и указују на потребу даљег истраживања у овој области, како би се боље разумели ови процеси и њихов клинички значај.

Радови:

1. Cekovic J, Prodanovic N, Mijailovic S, Knezevic S, Vuletic B, Stojkovic A, Savic D, Prodanovic T, Stanojevic M. and Simovic A. The perinatal factors that influence the excretion of fecal calprotectin in premature-born children. *Open Med (Wars)*. 2022 Jul 13;17(1):1275-1281. doi: 10.1515/med-2022-0522. [M22]
2. Ceković Đorđević J, Simović A, Vuletić B, Igrutinović Z, Savić D, Prodanović T, Miloradović Todosijević A, Živojinović Suzana. Uticaj perinatalnih faktora na vrednosti fekalnog kalprotektina u prvim danima života, 48. oktobarski zdravstveni dani srpskog lekarskog društva okružne podružnice Kragujevac sa međunarodnim učešćem, Kragujevac, 25-26. oktobar 2023. ISSN 0350-1221-Med.čas. 2023; 57 (Suplement 1), str. 69-70 [M34]

1.8. Оцена да је урађена докторска дисертација резултат оригиналног научног рада кандидата у одговарајућој научној области и анализа извештаја о провери докторске дисертације на плагијаризам (до 1000 карактера):

На основу претраге доступне литературе кроз детаљно и систематско истраживање биомедицинске базе података "Medline" и "KoBSON" базе, користећи одговарајуће кључне речи: *preterm infants, gastrointestinal tract, diagnostic markers, fecal calprotectin, necrotizing enterocolitis*, нису пронађене студије сличног дизајна и методолошког приступа. Комисија је оценила докторску дисертацију кандидата Јелене Цековић Ђорђевић, под насловом "Клинички значај одређивања концентрације фекалног калпротектина код превремено рођене деце", као резултат оригиналног научног рада. На основу анализе објављених студија, дисертација представља значајан допринос у области педијатрије и неонатологије.

Провером докторске дисертације на плагијаризам, утврђено је да није присутна било каква врста плагијаризма, што потврђује оригиналност рада.

Ова докторска дисертација представља значајан допринос научном пољу педијатрије и неонатологије, пружајући вредне увиде у клинички значај одређивања концентрације фекалног калпротектина, код превремено рођене деце. Кандидаткиња је показала систематичност и оригиналност у свом истраживању, доприносећи напредовању знања у овој области.

1.9. Значај и допринос докторске дисертације са становишта актуелног стања у одређеној научној области:

Докторска дисертација о новим открићима у вези са ФКП-ом као потенцијално корисним неинвазивним параметром интестиналног дистреса или инфламације код претерминске новорођенчади има значајан допринос у области неонатологије и педијатрије. Резултати ове дисертације имају велики научни и клинички значај у ери персонализованог медицинског приступа новорођенчету, јер пружају могућност ране детекције интестиналних проблема код ових „рањивих“ пацијената. Мерење ФКП-а у првих 7 дана након рођења је лако доступно, безболно и може се понављати, па може бити од посебног значаја, јер омогућава идентификацију раних знакова интестиналног дистреса или почетних стадијума некротизирајућег ентероколитиса, код претерминске новорођенчади, као и њихову прогресију.

Повећање дијагностичке тачности мерења ФКП-а, као што се наводи у докторској дисертацији, постиже се његовим серијским мерењем и укључивањем у панел са другим маркерима инфламације. Ово доприноси свеобухватнијем сагледавању стања новорођенчади, а боље разумевање перинаталних фактора који могу утицати на излучивање ФКП-а омогућава да се избегну лажно позитивни или лажно негативни налази. Тиме се унапређује клиничка пракса у неонатологији, пружајући лекарима и медицинском особљу поузданије алате за процену здравственог стања претерминске новорођенчади и правовремено интервенисање, у случају потребе.

Овим истраживањем отвара се пут за даље истраживање у области неонатологије, што може резултирати новим открићима у дијагностиковању и лечењу неонаталне инфламаторне ентеропатије, код претерминске новорођенчади. Такође, докторска дисертација пружа основу за даље истраживање и развој нових дијагностичких и терапијских стратегија за решавање здравствених изазова код ове новорођенчади.

1.10. Оцена испуњености услова за одбрану докторске дисертације у складу са студијским програмом, општим актом факултета и општим актом Универзитета (до 1000 карактера):

Комисија сматра да су испуњени сви услови за одбрану ове докторске дисертације у складу са студијским програмом, општим актима Факултета медицинских наука и општим актима Универзитета у Крагујевцу. Докторска дисертација испуњава све критеријуме за оригинални научни рад у области неонатологије и педијатрије. Аутор је успешно представио нове и значајне налазе у вези са коришћењем калпротектина као неинвазивног параметра за рану детекцију интестиналног дистреса или инфламаторне ентеропатије. Дисертација је добро структурирана, аналитичка и научно основана, са јасно изложеним циљевима и методологијом. Прикупљени подаци су детаљно обрађени и представљени на убедљив начин. Истраживање доприноси разумевању клиничких аспеката и терапије интестиналних проблема код претерминске деце. Оцена за испитивање на плагијаризам такође је позитивна, што потврђује да је дисертација оригиналан научни рад без било каквих неовлашћених копирања или прекршаја етичких норми. У целини, ова докторска дисертација задовољава све потребне критеријуме за успешну одбрану.

2. ЗАКЉУЧАК

На основу анализе докторске дисертације и приложене документације Комисија за оцену и одбрану докторске дисертације под насловом „Клинички значај одређивања концентрације фекалног калпротектина код превремено рођене деце“, кандидата Јелене Цековић Ворђевић, предлаже надлежним стручним органима да се докторска дисертација прихвати и да се одобри њена одбрана.

Чланови комисије:

др Биљана Вулетић, редовни професор

Факултет медицинских наука Универзитета у
Крагујевцу
Педијатрија

Председник комисије

др Зоран Игрутиновић, редовни професор

Факултета медицинских наука Универзитета у
Крагујевцу
Педијатрија

Члан комисије

др Милош Јешић, редовни професор

Медицински факултет Универзитета у Београду
Неонатологија, Педијатрија

Члан комисије