

1. Одлука Наставно-научног већа

Одлуком Наставно-научног већа Факултета медицинских наука Универзитета у Крагујевцу, број 01-6596/3-4, од 10. 07. 2013. године, именовани су чланови комисије за оцену научне заснованости теме докторске дисертације кандидата Др Далибора Паспаља, под називом:

„Параметри оксидационог стреса у периферној крви особа са акутним исхемијским можданим ударом“

Чланови комисије су:

1. **Проф. др Владимир Јаковљевић**, председник, ванредни професор Факултета медицинских наука Универзитета у Крагујевцу за ужу научну област Физиологија,
2. **Доц. др Марина Митровић**, члан, доцент Факултета медицинских наука Универзитета у Крагујевцу за ужу научну област Биохемија,
3. **Проф. др Тихомир Илић**, члан, ванредни професор Високе школе ВМА Универзитета одбране у Београду за ужу научну област Неурологија

2. Извештај комисије о подобности теме

2.1. Кратка биографија кандидата

Др Далибор Паспаљ је рођен 24. 05. 1970. године у Београду. Дипломирао је на Медицинском факултету Универзитета у Београду, завршио специјалистичке студије из физикалне медицине и рехабилитације. У периоду 2008-2011.год. одслушао је све три године на докторским студијама и положио усмени докторски испит из области експерименталне и примењене физиологије са спортском медицином.

У октобру 2011.године похађао семинар из области „Стратешко планирање здравствених организација“ под покровитељством Министарства за рад и социјалну политику, Министарства здравља РС и Светске банке, положен семинар и добијен сертификат из те области. Добијено Решење Министарства здравља за обављање субспецијалистичког стажа из области геронтологије. Од новембра 2011. до децембра 2012. године био је председник Управног одбора Дома здравља „Др Ђорђе Ковачевић,, у Лазаревцу. У прошлом сазиву био је и члан Савета за здравство Општине Вождовац, а већ други мандат је у Школском одбору Специјалне школе „Петар Матић“ за децу оболелу од церебралне парализе.

Од 2001.године запослен је Клиници за рехабилитацију „Др Мирослав Зотовић“ у Београду, на месту клиничког лекара, а од 2004. године на месту лекара специјалисте. Обављао је и дужност главног консултанта своје клинике и био члан дијагностичког тима

из области уродијагностике. Коаутор је неколико радова из области клиничке физиологије, спортске медицине и неуронауке.

Члан је Српског лекарског друштва и Удружења за неуронауке Србије, члан Савета са питања старења и старости Владе Републике Србије. Јуна 2013. године одбранио је рад уже субспецијализације из геронтологије на Медицинском факултету Универзитета у Београду.

Решењем Скупштине града Београда на седници одржаној 15.децембра 2011.године именован сам за в.д. директора Градског завода за геронтологију и палијативно збрињавање.

Говори енглески језик и познаје рад на рачунарима

2.2.Наслов, предмет и хипотеза докторске дисертације

Наслов: „Параметри оксидационог стреса у периферној крви особа са акутним исхемијским можданим ударом“

Предмет: Одређивање функције тромбоцита код пацијената са акутним исхемијским можданим ударом (АИМУ) као и корелација вредности ових параметара са ендотелном функцијом и оксидационим стресом.

Хипотеза: Код болесника са АИМУ може постојати висок степен корелације агрегабилности тромбоцита са биохемијским променама на нивоу ендотела што може имати одговарајућу релацију са клиничком сликом АИМУ.

2.3. Подобност кандидата

Кандидату је објављен један рад у целини за штампу у рецензираном часопису, у коме је први аутор, чиме је испунио услов за пријаву докторске тезе:

Paspalj D, Nikic P, Stojanovic B, Danilovic L, Simanic I, Jakovljevic V, Zivkovic V, Jovic S. Meaningful life is possible with locked-in syndrome: the personal account of a survivor. *Ser J Exp Clin Res* 2012; 13(2): 109-13 **M52=1.5 бод**

2.4. Преглед стања у подручју истраживања

Акутни мождани удар (инфаркт мозга, инсулт, шлог, мождана кап) (АМУ) се дефинише као фокални или глобални поремећај мождане функције, који нагло настаје, траје дуже од 60 минута, а последица је поремећаја мождане циркулације или стања у коме проток крви није довољан да задовољи метаболичке потребе неурона за кисеоником и глукозом. Најчешће настаје услед запушења крвног суда (акутни исхемијски мождани удар - 75-80% болесника) или прскања крвног суда и изливања крви у мозак или око мозга (акутни хеморагијски мождани удар - 20-25% болесника). АМУ представља ургентно медицинско стање може изазвати трајно неуролошких оштећења, компликације, и смрт. Фактори ризика за мождани удар укључују старост, висок крвни притисак, транзиторни исхемијски напад (ТИА), дијабетес, повишене вредности холестерола, пушење и фибрилација преткомора.

АМУ је трећи узрок смрти у развијеним земљама света, после болести срца и рака, а други узрок смрти у целом свету. У нашој земљи АМУ је први узрок смрти код жена, док је код мушкараца на другом месту, уз процену да сваких 20 минута неко доживи, а сваких 60 минута неко умре од можданог удара. Највећа стопа смртности је присутна у првих месец

дана болести и износи чак до 23%. Осим што се ради о болести са веома високом смртношћу, подједнако је озбиљна и чињеница да је ово неуролошка болест са највећим степеном инвалидитета. Рачуна се да се тек око половине свих преживелих врати некој врсти запослења, а да око 20-30% није способно за преживљавање без помоћи другог лица. Ово је, такође, болест са високим процентом понављања, тако да ће сваки трећи болесник, у периоду од 5 година, поново доживети мождани удар.

Акутни исхемијски мождани удар (АИМУ), као доминантни тип можданог удара настаје услед престанка снабдевања одређеног дела мозга кисеоником, чиме се иницира покретање каскаде исхемијских процена. Као најважнији узроци прекида мождане циркулације се наводе формирање тромба на терену нестабилног атеросклеротског плака и емболија крвних судова мозга. Управо због тога се интеракција тромбоцита и оштећеног васкуларног ендотела, који продукујући von Willebrand фактор (vWF) омогућавају адхезију и агрегацију тромбоцита, сматра кључном у настанку ризичних поремећаја мождане циркулације које воде прекиду перфузије мозга. Повезаност АИМУ са стањима повећане активности vWF, као важног параметра функције коагулационог система, је мало проучавана, али довољно да се истакне све већа улога овог гликопротеина у патогенези можданог удара.

Мождано ткиво је посебно осетљиво на исхемију, јер поседује малу респираторну резерву и потпуно је зависно од аеробног метаболизма, за разлику од већине других органа. Услед одсуства оксидативног метаболизма, зауставља се производња високо енергетских једињења, као што је аденозин трифосфат (АТФ), што онемогућава одвијање енергетски зависних процеса (рад јонских пумпи) неопходних за опстанак ћелија. На овај начин се покреће читав низ међусобно повезаних догађаја који у крајњем воде у оштећења и смрт ћелије.

Исхемија такође подстиче производњу слободних радикала и других реактивних врста кисеоника, потенцирајући развој оксидационог стреса и последична оштећења ћелија. Слободни радикали путем редокс сигнализације директно иницирају апоптозу неурона. Улога оксидативног стреса у оштећењу можданог ткива након АИМУ, последњих година постаје све значајнија захваљујући студијама у којима је показано да многобројни маркери оксидационог оштећења могу корелирати са степеном некрозе и прогресијом болести (8, 9). Захваљујући томе се све већа пажња посвећује примени агенаса који могу смањити дејство реактивних кисеоничних врста (везују их и инхибирају) на неуроне. У недавно спроведеним студијама је показано да антиоксидативни агенси, могу редуковати оштећења изазвана АИМУ, делујући на нивоу ендотела крвних судова мозга (10-12). Узевши у обзир етиологију настанка АИМУ-а као и круцијалну улогу L-аргинин/NO система у контроли васкуларног тонуса намеће се питање да ли овај систем може бити значајан и у механизму настанка овог стања и/или бити потенцијално ново терапијско поље. Литературни подаци који проучавају поменути проблематику су међутим оскудни и неусаглашени.

2.5. Значај и циљ истраживања

Значај студије

Акутни исхемијски мождани удар (АИМУ), као доминантни тип можданог удара настаје услед престанка снабдевања одређеног дела мозга кисеоником, чиме се иницира покретање каскаде исхемијских процена. Као најважнији узроци прекида мождане

циркулације се наводе формирање тромба на терену нестабилног атеросклеротског плака и емболија крвних судова мозга. Управо због тога се интеракција тромбоцита и оштећеног васкуларног ендотела сматра кључном у настанку ризичних поремећаја мождане циркулације које воде прекиду перфузије мозга. Улога оксидативног стреса у оштећењу можданог ткива након АИМУ, последњих година постаје све значајнија захваљујући студијама у којима је показано да многобројни маркери оксидационог оштећења могу корелирати са степеном некрозе и прогресијом болести. Захваљујући томе се све већа пажња посвећује примени агенаса који могу смањити дејство реактивних кисеоничних врста (везују их и инхибирају) на неуроне. У недавно спроведеним студијама је показано да антиоксидативни агенси, могу редуковати оштећења изазвана АИМУ, делујући на нивоу ендотела крвних судова мозга.

Циљ и хипотезе студије

Основна хипотеза студије је да код болесника са АИМУ може постојати висок степен корелације агрегабилности тромбоцита са биохемијским променама на нивоу ендотела што може имати одговарајућу релацију са клиничком сликом АИМУ.

Генерални циљ истраживања је одређивање функције тромбоцита код пацијената са АИМУ и корелација вредности ових параметара са ендотелном функцијом, која би била процењивана неинвазивним биохемијским методама, у смислу секреторне активности на антитромбогене/протромбогене факторе који се синтетишу у ендотелу (von Willebrandov фактор – vWf), док су њени специфични циљеви: испитати учешће различитих параметара оксидативног стреса и антиоксидационог система на опоравак болесника са АИМУ и њихову повезаност са клиничком сликом, као и испитати потенцијалну корелацију ендотелне дисфункције и степена оксидативног стреса у етиопатофизиологији АИМУ.

2.6. Веза истраживања са досадашњим истраживањима

Акутни исхемијски мождани удар (АИМУ), као доминантни тип можданог удара настаје услед престанка снабдевања одређеног дела мозга кисеоником, чиме се иницира покретање каскаде исхемијских процена. Као најважнији узроци прекида мождане циркулације се наводе формирање тромба на терену нестабилног атеросклеротског плака и емболија крвних судова мозга. Управо због тога се интеракција тромбоцита и оштећеног васкуларног ендотела сматра кључном у настанку ризичних поремећаја мождане циркулације које воде прекиду перфузије мозга.

Улога оксидативног стреса у оштећењу можданог ткива након АИМУ, последњих година постаје све значајнија захваљујући студијама у којима је показано да многобројни маркери оксидационог оштећења могу корелирати са степеном некрозе и прогресијом болести. Захваљујући томе се све већа пажња посвећује примени агенаса који могу смањити дејство реактивних кисеоничних врста (везују их и инхибирају) на неуроне. У недавно спроведеним студијама је показано да антиоксидативни агенси, могу редуковати оштећења изазвана АИМУ, делујући на нивоу ендотела крвних судова мозга.

2.7. Методе истраживања

Врста студије

Клиничка проспективна студија.

Популација која се истражује

Планирано истраживање би се спроводило у Специјалној болници за цереброваскуларне болести "Свети Сава", Београд. Студијом би било обухваћено 120 испитаника (оба пола, од 60 до 80 година старости) са исхемијском лезијом у сливу а. cerebrii media-e. У студију ће бити укључени само пацијенти: 1. са клинички манифестним АИМУ у сливу а. cerebrii media-e, (подручје М1 и М2), 2. налаз неуроимицинга који показује знаке акутне исхемије у подручју а. cerebrii media-e, који је конзистентан са клиничком дијагнозом, 3. функционалним дефицитом базираним на NIHSS (National Institutes of Health Stroke Scale) скору: 7-25, 4. код којих се исхемијски инфаркт мозга јавља први пут, 5. код којих не постоје друге неуролошке болести, 6. са информационом пристанак за укључивање у истраживање. Из студије ће бити искључени испитаници: 1. са знацима интракранијалног крварења или хеморагијске трансформације исхемичког можданог удара, 2. са исхемичним можданим ударом у подручју слива а. cerebrii media-e, који захвата мање од 2/3 територије поменути артерије, 3. са исхемичним можданим ударом у подручју постериорне циркулације (подручје иригације вертебралне, базиларне, или постериорне церебралне артерије), 4. са епилептичким нападом на почетку болести, 5. који користе било који облик антиагрегационе терапије и/или кортикостероидне лекове, 6. са системском инфекцијом 7. са клинички нестабилним медицинским стањем на основу клиничке презентације, историје болести и обављених дијагностичких процедура, као што су акутни инфаркт миокарда, плућна емболија, тешка хронична ренална инсуфицијенција и малигна обољења, 8. код којих услед exitus-a у акутној фази није могуће наставити испитивање.

Истраживање је одобрио Етички одбор Специјалне болнице за цереброваскуларне болести "Свети Сава", Београд.

Материјал и методе

Испитаници би били подељени у две групе: експерименталну (болесници са АИМУ, хоспитализовани у Специјалној болници за цереброваскуларне болести "Свети Сава") и контролну групу, који би чинили испитаници исте старосне доби који у својој историји болести немају нежељени акутни цереброваскуларни догађај и који нису користили било који облик антиагрегационе терапије.

Након клиничке верификације АИМУ, узорци крви за одређивање индекса агрегације тромбоцита на: АДП, колаген и аспирин, као и на активност (vWAct) и антиген (vWAg) за von Willebrandov фактор – vWf ће бити узимани: 1. унутар 24 сата од пријема, 2. седмог дана хоспитализације, док ће узорци крви за одређивање параметара оксидационог стреса (ниво индекса липидне пероксидације (TBARS), азотни моноксид (NO) у форми нитрита, супероксид анион радикала (O_2^-) и водоник пероксида (H_2O_2)), као и ензима прве линије ендogene антиоксидационе заштите у еритроцитима (супероксид дисмутазе – SOD и каталазе CAT) бити узимани у исто време као и узорци за рутинске биохемијске анализе у АИМУ (глукоза, уреа, креатинин, тропонин, ЦРП, холестерол, триглицериди): 1. на пријему у хоспитализацију, 2. унутар 24 сата након АИМУ, 3. унутар 72 сата након АИМУ и 4. седмог дана након АИМУ. Узорци крви у свим претходно поменути временским интервалима (осим првог узорка - на пријему у хоспитализацију) ће бити узимани између 8 и 9 часова ујутру, с обзиром да је за прецизно одређивање биохемијских параметара функције тромбоцита неопходно да узорак крви буде свеж, тј. да се анализе ураде без претходног или накнадног замрзавања.

Биохемијски параметри функције тромбоцита (антиген (vWF_{Ag}) и активност (vWF_{Act}) фон Вилебрандов-ог фактора, и индекса агрегације тромбоцита (TRAP)) биће одређивани коришћењем латекс имуноесеја за квантитативно одређивање сваког од параметара у хуманој плазми. Про- и анти-оксидациони маркери ће бити мерени спектрофотометријском методом.

Као примарна варијабла истраживања користиће се укупни скор за сваку групу, који ће одсликати дисфункцију ендотела и тромбоцита. Овај скор ће бити израчунат на основу процента промене сваког појединачног мереног параметра у односу на горњу, односно доњу нормалну вредност (Укупно 7 параметара у 3 категорије – дисфункција ендотела, дисфункција тромбоцита и оксидациони стрес). Очекује се да већи скор дисфункције буде у експерименталној у односу на контролну групу. Тестирање значајности статистичке разлике између група ће се обавити на основу коришћена Т-теста за два независна узорка. Уколико се подаци буду дистрибуирали непараметријски, користиће се Willcoxon – Mann Whitney тест.

Прорачун величине узрока је извршен на основу резултата претходно објављене студије. При томе је коришћен компјутерски програм PC Sample Size и статистички тест за примарну варијаблу, Т-теста за два независна узорка, уз $\alpha=0.05$, $\beta=0.2$ (Снага студије 80 %). На основу наведеног прорачунато је да је за експерименталну групу потребно најмање 60 пацијента, а у контролној групи 40 испитаника, што укупно чини да је студијски узорак најмање 100 испитаника.

При статистичкој обради резултата биће коришћен програм СПСС 13.0. Поред Т-теста који ће се користити за анализу разлике у примарној варијабли биће коришћени и други тестови у секундарној анализи. Такви тестови су, нпр. Сох-ов пропорционални модел (за одређивање утицаја коваријабли на секундарни исход – појава било ког нежељеног кардиоваскуларног догађаја), уни и мултиваријантна анализа варијансе (за симултану анализу промене композитног скорa у све три групе) и најзад χ квадрат тест за тестирање разлике категоријалних варијабли између група и корелациона анализа за тестирање повезаности појединачних варијабли.

2.8. Очекивани резултати докторске дисертације

Уколико се потврди радна хипотеза очекује се висок степен корелације агрегабилности тромбоцита са биохемијским променама на нивоу ендотела и адекватну релацију са клиничком сликом АИМУ. Добијени резултати би помогли у бољем разумевању етиопатофизиолошких догађаја који узрокују АИМУ-а, а самим тим и у ефикаснијој терапији (нпр. антиоксидациона заштита) стања која њему следе.

2.9. Оквирни садржај дисертације

Акутни исхемијски мождани удар (АИМУ), као доминантни тип можданог удара настаје услед престанка снабдевања одређеног дела мозга кисеоником, чиме се иницира покретање каскаде исхемијских процена. Као најважнији узроци прекида мождане циркулације се наводе формирање тромба на терену нестабилног атеросклеротског плака и емболија крвних судова мозга. Управо због тога се интеракција тромбоцита и оштећеног васкуларног ендотела сматра кључном у настанку ризичних поремећаја мождане циркулације које воде прекиду перфузије мозга. Улога оксидативног стреса у оштећењу можданог ткива након АИМУ, последњих година постаје све значајнија захваљујући студијама у којима је показано да многобројни маркери оксидационог оштећења могу

корелирати са степеном некрозе и прогресијом болести. Захваљујући томе се све већа пажња посвећује примени агенаса који могу смањити дејство реактивних кисеоничних врста (везују их и инхибирају) на неуроне. У недавно спроведеним студијама је показано да антиоксидативни агенси, могу редуковати оштећења изазвана АИМУ, делујући на нивоу ендотела крвних судова мозга.

Основна хипотеза студије је да код болесника са АИМУ може постојати висок степен корелације агрегабилности тромбоцита са биохемијским променама на нивоу ендотела што може имати одговарајућу релацију са клиничком сликом АИМУ.

2.10. Предлог ментора

За ментора се предлаже **Проф. др Владимир Јаковљевић**, ванредни професор Факултета медицинских наука Универзитета у Крагујевцу за ужу научну област Физиологија.

2.11. Научна област дисертације

Медицина. Ужа област: Примењена физиологија.

2.12. Научна област чланова комисије

1. **Проф. др Владимир Јаковљевић**, председник, ванредни професор Факултета медицинских наука Универзитета у Крагујевцу за ужу научну област Физиологија,
2. **Доц. др Марина Митровић**, члан, доцент Факултета медицинских наука Универзитета у Крагујевцу за ужу научну област Биохемија,
3. **Проф. др Тихомир Илић**, члан, ванредни професор Високе школе ВМА Универзитета одбране у Београду за ужу научну област Неурологија

Закључак и предлог комисије

1. На основу увида у резултате досадашње научно-истраживачке активности и публиковане радове Др Далибора Паспаља комисија закључује да кандидат поседује одговарајуће компетенције и да испуњава све услове да приступи изради докторске дисертације.
2. Предложена тема је научно оправдана, дизајн истраживања је прецизно постављен и дефинисан, методологија је јасна. Ради се о оригиналном научном делу које има за циљ да развије нов приступ изучавању интеракцији тромбоцита и васкуларног ендотела код болесника са АИМУ, са посебним акцентом на улогу оксидационог стреса у овом феномену.
3. Комисија сматра да ће предложена докторска теза Др Далибора Паспаља бити од великог научног и практичног значаја у смислу проучавања патофизиолошких механизма АИМУ.
4. Комисија предлаже Наставно-научном већу Факултета медицинских наука у Крагујевцу да прихвати пријаву теме докторске дисертације кандидата Др Далибора Паспаља под називом „**Параметри оксидационог стреса у периферној крви особа са акутним исхемијским можданим ударом**“ и одобри њену израду.

Проф. др Владимир Јаковљевић, председник, ванредни професор Факултета медицинских наука Универзитета у Крагујевцу за ужу научну област Физиологија,

Доц. др Марина Митровић, члан, доцент Факултета медицинских наука Универзитета у Крагујевцу за ужу научну област Биохемија,

Проф. др Тихомир Илић, члан, ванредни професор Високе школе ВМА Универзитета одбране у Београду за ужу научну област Неурологија

У Крагујевцу, 31. 07. 2013.