

**УНИВЕРЗИТЕТ У КРАГУЈЕВЦУ
МЕДИЦИНСКИ ФАКУЛТЕТ
КРАГУЈЕВАЦ**

1. Одлука Изборног већа Медицинског факултета Универзитета у Крагујевцу

Одлуком Изборног већа Медицинског факултета Универзитета у Крагујевцу, број 01-8835/3-4 од 01. 12. 2010 год, именовани су чланови Комисије за оцену научне заснованости теме докторске дисертације кандидата **др мед. Сенаде Павловић** под називом:

„Биомаркери инфламације у исхемијској болести срца“

На основу одлуке Изборног већа, формирана је Комисија у саставу:

1. Проф. др Александар Ђукић, редовни професор Медицинског факултета Универзитета у Крагујевцу за ужу научну област Патолошка физиологија, председник
2. Проф. др Снежана Живанчевић-Симоновић, редовни професор Медицинског факултета Универзитета у Крагујевцу за ужу научну област Патолошка физиологија, члан
3. Проф. др Видосава Ђорђевић, редовни професор Медицинског факултета Универзитета у Нишу за ужу научну област Биохемија, члан

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

ИЗВЕШТАЈ

Кандидат **др мед. Сенада Павловић**, испуњава све услове предвиђене Законом о високом образовању и Статутом Медицинског факултета у Крагујевцу за израду докторске дисертације.

2.1. Биографија кандидата

А. Лични подаци

Сенада Павловић је рођена 14.11.1978.године у Неготину. Основну школу и Гимназију „Предраг Костић“ завршила је у родном месту као ученик генерације.

Медицински факултет у Нишу уписала је школске 1997/1998. године. Студије је завршила 2005. године са просечном оценом 9,92 (9 и 92/100) и оценом 10 (десет) на дипломском испиту и тиме стекла звање доктора медицине. Обавила је општи лекарски стаж и положила стручни испит. Последипломске магистарске студије – смер кардиологија је уписала школске 2005/2006 године на Медицинском факултету у Нишу. На тесту општег медицинског знања организованог у склопу магистарских студија 2006. године показала је

највиши степен знања од свих тестираних магистраната и ослобођена је плаћања школарине за последипломске студије. Као студент је добила Диплому Амбасаде Краљевине Норвешке.

Октобра 2008. године је уписала Докторске академске студије на Медицинском факултету у Крагујевцу- смер Клиничка и експериментална интерна медицина, модул-кардиологија. Новембра 2009. године је положила усмени докторски испит из предмета Интерна медицина са оценом 10 (десет).

Стипендиста је Министарства за науку и технолошки развој од 2005 године. Ангажована је на пројекту Министарства за науку и технолошки развој- *Дијагностички и прогностички значај биомаркера инфламације, оксидационог стреса и смрти ћелије у исхемијској болести срца* (Пројекат бр. 145039 Б Министарства за науку и технолошки развој).

У радном је односу од новембра 2009. год. у Специјалној Болници „др Ђорић“ у Нишу.

Б. Научно истраживачки рад

Кандидат Сенада Павловић се кроз разне видове укључивала у наставни и научно-истраживачки рад. Активно се бави научно истраживачким радом у лабораторији Центра за медицинску биохемију, Клиничког центра у Нишу. Континуирани научно истраживачки рад огледа се у учешћу на пројекту Министарства за науку и технолошки развој- *Дијагностички и прогностички значај биомаркера инфламације, оксидационог стреса и смрти ћелије у исхемијској болести срца* (Пројекат бр. 145039 Б Министарства за науку и технолошки развој).

В. Подаци о објављеним радовима

Кандидат Сенада Павловић објавила је два рада у целини публикована у националним часописима, један рад у целини публикован у научним часописима међународног значаја и већи број сажетака на међународним и домаћим научним скуповима. Од поменутих радова за извештај су релевантни:

1. **Dimić S.** Patofiziološki značaj oksidativno modifikovane LDL čestice. Medicinski časopis 2009;1:31-38. (M53, 1 бод)
2. **Dimić S.** Uloga hepatocita u metabolizmu lipoproteina. Medicinski časopis 2009;2:40-47. (M53, 1 бод).

2.2. Наслов, предмет и хипотезе докторске тезе

Наслов:

„Биомаркери инфламације у исхемијској болести срца“

Предмет:

Исхемијска болест срца најчешће настаје као последица атеросклерозе. Инфламација има кључну улогу у процесу атеросклерозе, не само као фактор иницијације, већ и значајан фактор његове прогресије. Основни циљеви истраживања

ће бити испитивање значаја биомаркера инфламације, укључујући број леукоцита, брзину седиментације еритроцита, фибриноген, високо сензитивни С реактивни протеин (hsCRP), фактор некрозе тумора алфа (TNF- α), NO $_2^-$ /NO $_3^-$, ADMA и неоптерин, у исхемијској болести срца, и утврђивање који од њих је највалиднији биомаркер у праћењу болесника са исхемијском болешћу срца. Проспективним истраживањем ће бити обухваћено 180 пацијената, који ће бити сврстани у пет група: испитаници хоспитализовани под дијагнозом инфаркта миокарда са елевацијом ST сегмента; испитаници хоспитализовани под дијагнозом инфаркта миокарда без ST елевације; испитаници хоспитализовани под дијагнозом нестабилне ангине пекторис; испитаници хоспитализовани под дијагнозом стабилне ангине пекторис и контролна група здравих испитаника. Свим испитаницима, укљученим у истраживање, у току хоспитализације ће бити урађене следеће анализе: електрокардиографски преглед; основне лабораторијске анализе; одређивање маркера некрозе – тропонин I, СК-МВ; одређивање маркера инфламације – број леукоцита, брзина седиментације еритроцита, фибриноген, hsCRP, TNF- α , NO $_2^-$ /NO $_3^-$, ADMA и неоптерин; и утврђивање присуства интрахоспиталних компликација. Код пацијената са исхемијском болешћу срца очекује се да се добију повишене вредности биомаркера инфламације у крви и то: броја леукоцита, седиментације еритроцита, фибриногена, hsCRP, TNF- α , NO $_2^-$ /NO $_3^-$, асиметричног диметиларгинина (ADMA) и неоптерина. Очекује се да нивои hsCRP-а и неоптерина корелирају са степеном исхемијске болести и нивоом TNF- α .

Хипотезе:

1. Основна хипотеза истраживања је да је исхемијска болест срца удружена са повишеним нивоом биомаркера инфламације у поређењу са здравим особама;
2. Степен пораста вредности маркера инфламације сразмеран је стадијуму исхемијске болести срца;
3. Пораст маркера инфламације, сразмерно клиничком експримирању болести, може их квалификовати као предиктивне факторе у исхемијској болести срца.

2.3. Подобност кандидата

Кандидат, Сенада Павловић положила је усмени докторски испит 04. 11. 2009. године са оценом 10 (десет). У току студија објавила је један рад у научним часописима међународног значаја и два рада у националним часописима, од чега два рада у којима је први аутор, чиме је испунила услов за пријаву докторске тезе.

2.4. Преглед стања у подручју истраживања

Кардиоваскуларне болести су водећи узрок обољевања и смртности у развијеним земљама и земљама у развоју, са тенденцијом значајног пораста у неколико последњих деценија. Посебно значајно место међу њима припада коронарној болести срца, чија клиничка презентација укључује нему исхемију, стабилну и нестабилну ангину пекторис, инфаркт миокарда са или без елевације ST-сегмента, срчану инсуфицијенцију и изненадну срчану смрт. Исхемијска болест срца најчешће настаје

као последица атеросклерозе. Инфламација има кључну улогу у процесу атеросклерозе, не само као фактор иницијације, већ и значајан фактор његове прогресије. Високо сензитивни С реактивни протеин (**hsCRP**), маркер системске инфламације, је реактант акутне фазе, β глобулин кога у иницијалној фази имунског одговора продукује јетра, а чију активност стимулишу проинфламаторни цитокини, посебно интерлеукин 6 (IL-6), интерлеукин 1 бета (IL-1 β) и фактор туморске некрозе- α (TNF- α). Високо сензитивни CRP индукује експресију ћелијских адхезивних молекула у ендотелним ћелијама, на тај начин директно промовишући инфламаторну компоненту атеросклерозе. Такође је показано да се hsCRP може користити као прогностички маркер код болесника са акутним коронарним синдромом, чак и у одсуству некрозе миокарда, при чему hsCRP одражава „рањивост“ плака и вероватноћу његове руптуре. Налаз повећаних нивоа маркера инфламације, као што је фибриноген и hsCRP код болесника са еволутивном и нестабилном коронарном болешћу је знак већег ризика и лоше прогнозе. Сматра се значајним предиктором срчаног и можданог удара, болести периферне циркулације и напрасне срчане смрти, међу водећим је маркерима стратификације ризика будућег коронарног догађаја, с обзиром на то да рефлектује нестабилност атеросклеротског плака и могућност његове руптуре. **Цитокини** су сигнални пептиди који стимулишу инфламаторни одговор, захваљујући високом афинитету за рецепторе на површини мембране ендотелних ћелија. Проинфламаторни цитокини, IL-1, IL-6 и TNF- α , имају кључну улогу у појави инфламације у зиду крвног суда и у формирању вулнерабилног плака. TNF- α је проинфламаторни цитокин важан у иницијацији инфламаторног одговора. Продукован од стране макрофага, пенстих ћелија и мастоцита, промовише ћелијску инфилтрацију плака и стимулише продукцију осталих цитокина, што повећава нестабилност плака и доводи до формирања тромба. Са акутном исхемијом најпре долази до пораста TNF- α , који заједно са IL-1 индукује глаткомишићне ћелије у плаку да секретују IL-6 који даље учествује у настанку васкуларног оштећења. Цитокини повећавају и стварање β фибриногена у јетри, због чега расте и ниво фибриногена у плазми. **Неоптерин**, дериват птеридина, је маркер инфламације и активације имунског система, који се синтетише од стране макрофага под утицајем интерферона гама (IFN- γ). Овај медијатор има способност да индукује про-атеротромботски фенотип у коронарној циркулацији. Он модулира интрацелуларни редокс систем, а утиче и на активацију проинфламаторних гена одговорних за продукцију IL-1, IL-6, интерлеукина 8 (IL-8), IFN- γ , моноцитног хемотактичког протеина 1 (MCP-1), васкуларног ћелијског адхезивног молекула 1 (VCAM-1), интерћелијског адхезивног молекула 1 (ICAM-1), TNF- α и других. Код пацијената са нестабилном ангином пекторис су доказане повећане концентрације IL-6 и удруженост са лошом прогнозом, што је објашњено тиме да је он водећи фактор хепатичне продукције CRP-а. IFN- γ смањује синтезу интерстицијалног колагена, а подстиче активацију макрофага, чиме доприноси дестабилизацији нестабилног атеросклеротског плака. Скорашњи подаци указују на то да су серумски нивои неоптерина повећани код пацијената са коронарном и периферном артеријском болешћу и да може бити прогностички маркер нежељених кардиоваскуларних догађаја. Азот моноксид (**NO**) је интрацелуларни сигнални молекул, који се синтетише из L-аргинина под дејством азот-моноксид синтазе (NOS) и важан је у регулацији различитих физиолошких процеса. Он изазива вазодилатацију, а преко ње регулише крвни притисак, инхибира агрегацију тромбоцита, инхибира адхезију леукоцита, регулише пролиферацију глаткомишићних ћелија чиме испољава антиатерогена својства. Неоптерин је укључен у активацију како конститутивне форме NOS (ендотелна и неурална), тако и индуцибилне азот-оксид синтазе (iNOS) и у синтезу и регулацију активности TNF- α . Секреција NO је делимично регулисана ендокрином или паракрином функцијом TNF- α . Индуцибилна NOS, је калцијум

независна, конститутивно није експримирана, већ је за индукцију њене експресије неопходно присуство цитокина. Појединачна стимулација глаткомишићних ћелија неоптерином или TNF- α доводи до генске експресије iNOS и следствене продукције NO. Како је ендотелна дисфункција један од најранијих знакова атеросклерозе, редукована продукција NO се разматра као један од најранијих и најважнијих маркера ендотелне дисфункције.

Асиметрични диметиларгинин (ADMA) је ендогена метилисана форма аминокиселине L-аргинин која инхибише активност ензима ендотелне азот-моноксид синтазе (eNOS), чиме се смањује синтеза азот-моноксида (NO). Пораст синтезе и/или редуковани катаболизам ADMA може допринети настанку и прогресији атеросклерозе и тромбозе. Новије студије указују на то да су концентрације ADMA у плазми повишене код пацијената са повећаним кардиоваскуларним ризиком и са васкуларним поремећајима. Пораст концентрације ADMA код пацијената са атеросклеротским ризиком повезан је са порастом концентрације неоптерина. Штетни ефекти ADMA-е на ендотелну функцију, кардиоваскуларну хомеостазу и кардиоваскуларни исход се интензивно истражују. Претпоставља се да је ADMA погодан дијагностички маркер за одређивање ризика за кардиоваскуларне болести. Биохемијски пут који регулише ADMA може бити обећавајући терапеутски приступ у лечењу кардиоваскуларних болести.

2.5. Значај и циљ истраживања са становишта актуелности у одређеној научној области

Основни циљеви истраживања ће бити испитивање значаја биомаркера инфламације, укључујући број леукоцита, брзину седиментације еритроцита, фибриноген, hsCRP, TNF- α , NO $_2^-$ /NO $_3^-$, ADMA и неоптерин, у исхемијској болести срца, и утврђивање који од њих је највалиднији биомаркер у праћењу болесника са исхемијском болешћу срца.

Значај студије је у утврђивању да ли неки од нестандартних маркера инфламације може са високом сигурношћу да укаже на степен активности атеросклеротског плака, као и да ли може да омогући рану стратификацију пацијената или да има предиктивну вредност код болесника са исхемијском болешћу срца.

2.6. Веза истраживања са досадашњим истраживањима

Обзиром на распрострањеност исхемијске болести срца у развијеном свету, као и код нас, дијагностички поступци су у сталном развоју и усавршавању, све у циљу адекватног и правовременог лечења. У до сада објављеној и доступној литератури сматра се да биомаркери инфламације имају значајну улогу у процесу атеросклерозе важним за настанак и развој исхемијске болести срца. Међутим, корелација свих овде предвиђених биомаркера инфламације са степеном исхемијске болести срца није испитивана. Планирана студија би требало по први пут да испита да ли нестандартни биомаркери инфламације могу са високом сигурношћу да укажу на степен активности атеросклеротског плака. Значај студије је да омогући рану стратификацију пацијената или да има предиктивну вредност код болесника са исхемијском болешћу срца. У нашој земљи не постоји ниједан објављен рад на ову тему.

2.7. Методе истраживања

Испитивање ће бити реализовано у Центру за медицинску биохемију Клиничког центра Ниш и Институту за кардиоваскуларне болести и рехабилитацију „Радон“ у периоду октобра 2010. год. до марта 2011. год. у склопу пројекта одобреног од стране Министарства за науку и технолошки развој (Пројекат бр. 145039 Б).

Проспективним истраживањем ће бити обухваћено 180 пацијената, који ће бити сврстани у пет група:

- а) Испитаници хоспитализовани под дијагнозом инфаркта миокарда са елевацијом ST сегмента,
- б) Испитаници хоспитализовани под дијагнозом инфаркта миокарда без ST елевације,
- в) Испитаници хоспитализовани под дијагнозом нестабилне ангине пекторис,
- г) Испитаници хоспитализовани под дијагнозом стабилне ангине пекторис,
- д) Контролна група здравих испитаника.

Свим испитаницима, укљученим у истраживање, у току хоспитализације ће бити урађене следеће анализе:

- а) **Узимање анамнестичких података и физикални преглед** - са посебним освртом на присуство фактора ризика за коронарну болест и постојање коморбидитета, као што су старосна доб, хипертензија, хиперхолестеролемија, хипертриглицеридемија, дијабетес, гојазност, пушење цигарета, лично оптерећење (хипертензија, нема исхемија, ангина пекторис, ранији инфаркт миокарда, доказана вишесудовна болест, претходна реваскуларизација миокарда, конгестивна срчана инсуфицијенција, шум новонастале митралне регургитације, бубрежна инсуфицијенција) и породично оптерећење;
- б) **Електрокардиографски преглед;**
- в) **Основне лабораторијске анализе** - липидни статус (укупни, HDL и LDL холестерол, триглицериди), глукоза, уреа, креатинин, трансаминазе, фибриноген, крвна слика;
- г) **Одређивање маркера некрозе** – тропонин I, СК-МВ;
- д) **Одређивање маркера инфламације** – број леукоцита, брзина седиментације еритроцита, фибриноген, hsCRP, TNF- α , NO $_2^-$ /NO $_3^-$, ADMA и неоптерин.
- ђ) **Утврђивање присуства интрахоспиталних компликација** - рекурентни бол, динамика ST сегмента и T таласа на ЕКГ-у, увећање тропонина I и/или СК-МВ, хемодинамска нестабилност, малигни поремећаји ритма, рана постинфарктна ангина пекторис, дијабетес мелитус, поремећаји провођења, Килип класа, крварење, тромбоцитопенија, анемија, велики акутни коронарни догађаји (смртни исход, реинфаркт, перкутана интервенција, хируршка реваскуларизација);

Селекција болесника вршиће се на основу анамнестичких података о болу у грудима, електрокардиографских промена, активности кардиоспецифичних ензима у серуму (СК-МВ) и маркера некрозе (тропонина I).

Испитаницима ће се детаљно узети анамнестички подаци о присуству свих традиционалних фактора ризика за исхемијску болест срца.

Класични лабораторијски параметри одређиваће се стандардним биохемијским методама.

Концентрација hsCRP одређиваће се имуно-хемијском методом на аутоанализеру Олимпус, Јапан (OLYMPUS AU 400^{ce} Chemistry Immuno Analyser). ТНФа и неоптерин одређиваће се ELISA методом. Ниво NO₂/NO₃ мериће се кадмијум-редукционом методом, а ADMA HPLC техником.

Резултати ће бити упоређени са резултатима контролне групе здравих особа.

Од посебног значаја ће бити утврђивање прогнозе болесника у односу на следеће догађаје: напрасна смрт, реинфаркт, рехоспитализација због нестабилне ангине, перкутана интервенција, хируршка реваскуларизација, срчана инсуфицијенција.

Посматрани студијски узорак је израчунат узимајући алфа као 0,05 и снагу студије од 0,9 за Т-тест (два независна узорка), поредећи групе међу собом (у оба смера), према статистичком порграму PASS. Снага студије је прерачунавана према прелиминарно урађеним прорачунима за све испитиване групе и установљено је да се број узорака по групи, у зависности од разлика између група, креће од 10 за CRP до 30 за параметре где је установљена мања статистичка разлика међу групама. Тестирањем је утврђено да је укупни студијски узорак одређен на број од 120 испитаника.

Врста студије

Проспективна студија

Статистичка обрада

Добијени резултати ће бити обрађени помоћу програма за статистичку обраду (SPSS 12.0 и Сигма Стат 3.5). Вредности испитиваних обележја ће бити одређене дескриптивном анализом, а приказане као аритметичка средина ± стандардна девијација, апсолутна вредност или проценат. Разлике просечних вредности испитиваних параметара унутар и између група биће одређене Студентовим Т-тестом и χ^2 -тестом, у зависности од карактеристика испитиваних обележја. Параметри ће бити корелирани линеарном регресионом анализом. Биће коришћене мултипла регресиона анализа и Каплан-Мајерова крива преживљавања. Резултати ће бити приказани табеларно и графички.

2.8. Очекивани резултати докторске дисертације

Код пацијената са исхемијском болешћу срца очекује се да се добију повишене вредности биомаркера инфламације у крви и то: броја леукоцита, седиментације еритроцита, фибриногена, hsCRP, TNF- α , NO₂/NO₃, ADMA и неоптерина. Очекује се да нивои hsCRP-а и неоптерина корелирају са степеном исхемијске болести и нивоом TNF- α . Такође се очекују различити профили корелације биомаркера инфламације и липидних профила, односно кардијачних маркера у појединим групама испитаника.

2.9. Оквирни садржај дисертације

Планирано је да докторска дисертација кандидата Др Сенаде Павловић садржи следећа поглавља: Увод, Циљеви истраживања, Хипотезе, Материјал и Методе, Резултати, Дискусија, Закључак и Литература. Резултати рада биће садржани у табелама, графиконима, а у поглављу литература биће цитиране библиографске јединице из домаћих и иностраних стручних публикација.

2.10. Научна област дисертације

Медицина. Изборно подручје: Клиничка и експериментална интерна медицина - модул кардиологија.

2.11. Научна област чланова комисије

1. Проф. др Александар Ђукић, редовни професор Медицинског факултета Универзитета у Крагујевцу за ужу научну област Патолошка физиологија, председник
2. Проф. др Снежана Живанчевић-Симоновић, редовни професор Медицинског факултета Универзитета у Крагујевцу за ужу научну област Патолошка физиологија, члан
3. Проф. др Видосава Ђорђевић, редовни професор Медицинског факултета Универзитета у Нишу за ужу научну област Биохемија, члан

Закључак и предлог Комисије

1. На основу досадашњег научно истраживачког рада и публикованих радова кандидат др мед. Сенада Павловић, испуњава све услове прописане Статутом Медицинског факултета и законом о Универзитету за одобрење теме и израду докторске дисертације;
2. Предложена тема је научно оправдана и оригинална, дизајн истраживања прецизно постављен и дефинисан, а научна методологија јасна и прецизна;
3. Комисија сматра да ће докторска дисертација кандидата др мед. Сенаде Павловић указати да постоје статистички значајни резултати и показатељи да су код пацијената са исхемијском болешћу срца повишене вредности биомаркера инфламације у крви и то: броја леукоцита, седиментације еритроцита, фибриногена, hsCRP, TNF- α , NO $_2^-$ /NO $_3^-$, ADMA и неоптерина, као и да нивои hsCRP-а и неоптерина корелирају са степеном исхемијске болести и нивоом TNF- α , што их чини потенцијалном дијагностичким и прогностичким маркерима у исхемијској болести срца.

Комисија предлаже Већу ментора Медицинског факултета у Крагујевцу да прихвати тему докторске дисертације кандидата др мед. Сенаде Павловић под називом „Биомаркери инфламације у исхемијској болести срца“ и одобри њену израду.

Предлог ментора

За ментора ове докторске тезе Комисија предлаже Проф. др Видосаву Ђорђевић, редовног професора Биохемије Медицинског факултета Универзитета у Нишу. Проф. др Видосава Ђорђевић поседује стручне и научне компетенције које су комплементарне са предметом истраживања и планираном методологијом, као и искуство и остварене резултате у развоју научно-наставног подмлатка.

У Крагујевцу
15.12.2010.г.

ЧЛАНОВИ КОМИСИЈЕ

1. Проф. др Александар Ђукић, председник, редовни професор Медицинског факултета Универзитета у Крагујевцу за ужу научну област Патолошка физиологија,

2. Проф. др Снежана Живанчевић-Симоновић, члан редовни професор Медицинског факултета Универзитета у Крагујевцу за ужу научну област Патолошка физиологија

3. Проф. др Видосава Ђорђевић, члан, редовни професор Медицинског факултета Универзитета у Нишу за ужу научну област Биохемија
