

УНИВЕРЗИТЕТ У КРАГУЈЕВЦУ
ФАКУЛТЕТ МЕДИЦИНСКИХ НАУКА
НАСТАВНО-НАУЧНОМ ВЕЋУ

ПРЕДМЕТ:
ИЗВЕШТАЈ КОМИСИЈЕ О ОЦЕНИ ЗАВРШЕНЕ
ДОКТОРСКЕ ДИСЕРТАЦИЈЕ

1. ОДЛУКА НАСТАВНО-НАУЧНОГ ВЕЋА ФАКУЛТЕТА МЕДИЦИНСКИХ
НАУКА УНИВЕРЗИТЕТА У КРАГУЈЕВЦУ

На седници Наставно-научног већа Факултета медицинских наука Универзитета у Крагујевцу, одржаној дана 03.06.2015. године, одлуком број 01-5586/3-38, формирана је Комисија за оцену и одбрану завршене докторске дисертације под називом “**Генски полиморфизми цитокина High mobility group box-1 код критично оболелих пацијената са сепсом и траумом**“ кандидата асистента др Драгана Ђорђевића, у следећем саставу:

1. **Проф. др Маја Шурбатовић**, редовни професор Медицинског факултета ВМА Универзитета одбране у Београду за ужу научну област Анестезиологија и интензивно лечење, председник
2. **Проф. др Звонко Магић**, редовни професор Медицинског факултета ВМА Универзитета одбране у Београду за ужу научну област Биологија са хуманом генетиком, члан
3. **Доц. др Иван Јовановић**, доцент Факултета медицинских наука Универзитета у Крагујевцу за уже научне области Микробиологија и имунологија и Основи Онкологије, члан

Комисија је прегледала и проучила докторску дисертацију асистента др Драгана Ђорђевића и подноси Наставно-научном већу следећи

ИЗВЕШТАЈ

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

Докторска дисертација кандидата асистента др Драгана Ђорђевића под називом “Генски полиморфизми цитокина **High mobility group box-1** код критично оболелих пацијената са сепсом и траумом“ представља истраживање које се бавило утицајем полиморфизма гена **High mobility group box-1** на експресију овог протеина- цитокина код критично оболелих пацијената са сепсом и траумом.

Имунски одговор значајно доприноси морбидитету и морталитету код критично оболелих пацијената и показује висок ниво интер-индивидуалне варијације. Подаци из литературе показују да постоје значајне разлике и у испољавању клиничке слике и у исходу код пацијената са сличним инсултом који је активирао имунски систем (траума и/или инфекција). У фокусу истраживања у новије време нашле су се генске детерминанте инфламаторног одговора а посебно група гена која регулише имунски одговор на трауму и/или инфекцију.

Синдром системског инфламаторног одговора (енгл. Systemic Inflammatory Response Syndrome- SIRS) може бити изазван инфективним (сепса) или неинфективним (траума) инсултом. Последична мултипла дисфункција органа је главни узрок смрти пацијената лечених у Јединици хирушког интензивног лечења. Нова патофизиолошка теорија о сепси и/или трауми истиче значај раног проинфламаторног одговора и цитокина који могу довести до развоја ране мултипле органске дисфункције и смрти. Такође, важан је и имуносупресивни одговор, који се истовремено одвија, и који може довести до развоја секундарних инфекција, касне мултипле органске дисфункције и смрти.

Значај ове студије је у томе да она треба да допринесе даљем расветљавању генске основе имуноинфламаторног одговора организма код критично оболелих пацијената са

SIRS-ом различите етиологије. У имунској каскади SIRS-а посебно је значајан утицај проинфламаторних цитокина, међу којима је и **High mobility group box-1** (HMGB1), који је био предмет проучавања ове студије. Овај цитокин је специфичан по томе што се касно излучује и максималне концентрације достиже након 24 сата од дејства инсульта. Због тога постоји могућност терапијског деловања (терапијски прозор) у смислу супримирања проинфламаторног одговора који би блокирао секрецију HMGB1 из моноцита. Ова студија је пратила учесталост генског полиморфизма за цитокин HMGB1 код две групе критично оболелих пацијената (сепса, траума). Детекција повезаности одређеног генског полиморфизма са исходом могла би да укаже на групу пацијената са повећаним ризиком од морталитета на самом почетку лечења. Такође, већи број студија је показао генски полиморфизми овог цитокина могу имати утицаја и у хроничној инфламацији, имунотолеранцији и туморској имуности.

Докторска теза кандидата својим дизајном је омогућила боље разумевање појединих механизма имунске каскаде код критично оболелих пацијената са сепсом и траумом, а својим резултатима довела до недвосмислених закључака о значају цитокина HMGB1 у патофизиологији сепсе и трауме.

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

Прегледом доступне литературе прикупљене детаљним и систематским претраживањем доступних биомедицинских база података "Medline" и "CoBSON" помоћу следећих кључних речи: "High mobility group box-1", "polymorphism", "sepsis", "trauma", утврђено је да је до сада спроведена само једна слична студија и то „Clinical relevance of single nucleotide polymorphisms of the high mobility group box 1 protein gene in patients with major trauma in southwest China“ Zeng L. et al. која је објављена 2012. год. Студија др Драгана Ђорђевића је јединствена по избору прецизно дефинисане групе критично оболелих пацијената са сепсом и траумом као и по оригиналном истраживачком и методолошком приступу.

На основу тога, Комисија констатује да докторска дисертација кандидата др Драгана Ђорђевића под називом "Генски полиморфизми цитокина **High mobility group box-1** код критично оболелих пацијената са сепсом и траумом" представља резултат оригиналног научног рада у области генетике и молекуларне биологије код пацијената са сепсом и траумом.

2.3. Преглед остварених резултата рада кандидата у одређеној научној области

A. Лични подаци

Кандидат асистент др мед Драган Ђорђевић рођен је 24.03. 1966. у Ћуприји. Медицински факултет Универзитета у Нишу уписао је 1986. године, а дипломирао је 1991. са просечном оценом 8,53. Специјализацију из анестезиологије и реаниматологије је завршио на Војномедицинској академији у Београду 1999. године са одличном оценом. Академске 2007/2008. године је уписао Докторске академске студије на Медицинском факултету Универзитета у Крагујевцу, смер Имунологија, инфекција, инфламација. Положио је све испите предвиђене програмом, као и усмени докторански испит 31. октобра 2009. године са оценом девет (9).

Запослен је на Војномедицинској академији у Београду, као лекар специјалиста анестезиологије и реаниматологије и тренутно је на дужности начелника Одељења за интензивну терапију у Клиници за анестезиологију и интензивну терапију ВМА. У марту 2013. године је изабран у звање асистента за ужу научну област Анестезиологија и интензивно лечење на Медицинском факултету ВМА Универзитета одбране у Београду.

Аутор је или коаутор већег броја радова објављених у домаћим и међународним часописима. Учествовао је као предавач на више конгреса и симпозијума из области анестезиологије и интензивне терапије.

Др Драган Ђорђевић је остварио 28,5 бодова по основу радова објављених у целини у међународним или домаћим часописима, бодованих према члану 177. Статута факултета.

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

1. Dragan Djordjevic, Pejovic J, Surbatovic M, Jevdjic J, Radakovic S, Veljovic M, Peric A, Andjelic T, Popovic N. Prognostic value and daily trends of interleukin-6, neutrophil CD64 expression, c-reactive protein and lipopolysaccharide/binding protein in critically ill patients: reliable predictors of outcome or not? J Med Biochem 2015; doi: 10.1515/jomb-2015-0002 **M23 - 3 бода.**
2. Surbatovic M, Veljovic M, Jevdjic J, Popovic N, Djordjevic D, Radakovic S. Immunoinflammatory response in critically ill patients: Severe sepsis and/or trauma. Mediators Inflamm 2013; 2013:362793 **M23 - 3 бода.**
3. Surbatovic M, Jevdjic J, Veljovic M, Popovic N, Djordjevic D, Radakovic S. Immune response in severe infection: Could life-saving drugs be potentially harmful? Scientific World Journal 2013; 2013: 961852 **M23 - 3 бода.**
4. Djordjević D, Surbatović M, Ugrinović D, Radaković S, Jevdjić J, Filipović N, Romić P, Jovanović D. New aspects of sepsis pathophysiology in critically ill. Vojnosanit Pregl 2012; 69(1): 58-68 **M23 - 3 бода.**
5. Vesić Z, Đordjevic D, Radaković S, Zeba S, Jovanović D, Novaković M. Effect of mechanical pressure-controlled ventilation in patients with disturbed respiratory function during laparoscopic cholecystectomy. Vojnosanit Pregl 2013; 70(1): 9-15 **M23 - 3 бода.**
6. Šurbatovic M, Vesić Z, Đordjevic D, Radaković S, Zeba S, Jovanović D, Novaković M. Hemodynamic stability in total intravenous propofol anesthesia with midazolam coinduction versus general balanced anaesthesia in laparoscopic cholecystectomy. Vojnosanit Pregl 2012; 69(11): 967-72 **M23 - 3 бода.**

7. Mikić D, Nožić D, Kojić M, Popović S, Hristović D, Rajić-Dimitrijević R, Ćurčić P, Milanović M, Glavatović R, Begović-Kuprešanin V, Veljović M, Đorđević D, Kuljić-Kapulica N, Čekanac R, Stefanović D. Clinical manifestations, therapy and outcome of pandemic influenza A (H1N1) 2009 in hospitalized patients. *Vojnosanit Pregl* 2011; 68(3): 248-56 **M23 - 3 бода.**
8. Surbatovic M, Radakovic S, Jevtic M, Filipovic N, Romic P, Popovic N, Jevdjic J, Grujic K, Djordjevic D. Predictive value of serum bicarbonate, arterial base deficit/excess and SAPS III score in critically ill patients. *Gen Physiol Biophys* 2009; 28: 271-276 **M23 - 3 бода.**
9. Ђорђевић Д, Марић Н, Ковачевић С, Добросављевић Ж, Рондовић Г, Дамјановић Н. Анестезија и видео-асистирана торакоскопска тимектомија код болесника са мијастенијом гравис. *Српски часопис Анестезија и интензивна терапија* 2013; 1-2: 85-90 **M52 - 1.5 бод.**
10. Perić A, Šurbatović M, Vezmar Kovačević S, Antunović M, Veljović M, Krstić Lečić I, Djordjević D, Kilibarda V, Zeba S, Dobrić S. Beta-lactam antibiotics use in intensive care units- The pathophysiology, pharmacokinetic, pharmacodynamic and pharmacoeconomic approach. *Vojnosanit Pregl* 2015; 72(2): 175-80 **M23 - 3 бода.**

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

Наслов докторске дисертације и урађеног истраживања се поклапају. Циљеви истраживања идентични су са одобреним у пријави тезе.

Докторска дисертација кандидата др Драгана Ђорђевића под називом **Генски полиморфизми цитокина High mobility group box-1 код критично оболелих пацијената са сепсом и траумом**“ је написана на 101 страници и садржи следећа поглавља: Увод, Иmunско-инфламаторна каскада у сепси и трауми, Сепса и траума, Гени и генски полиморфизми, Предмет студије, Циљеви и хипотезе студије, Материјал и методе студије, Резултати, Дискусија, Закључци и Литература. Рад садржи 8 табела, 19 слика и 12

графикана, док су у поглављу Литература цитиране 122 библиографске јединице из иностраних и домаћих стручних публикација.

У уводном делу кандидат је изложио проблематику као и савремене дефиниције сепсе и трауме са посебним нагласком на нове препоруке за дијагностику и третман ових пацијената.

У деловима Иmunско-инфламаторна каскада у сепси и трауми, Сепса и траума, кандидат је јасно и свеобухватно, позивајући се на савремене литературне податке, изложио досадашња сазнања о улози урођеног имунског система у сепси и трауми, структури и функцији цитокина са нагласком на улози проинфламаторног цитокина High mobility group box-1, који има бројне физиолошке и патофизиолошке функције у једру, ћелији и ванћелијском простору. Посебно су размотрена нова сазнања о патофизиологији сепсе и трауме. Такође, описани су механизми у урођеном и стеченом имунском систему који доводе до тешке имуносупресије, развоја секундарних инфекција и ране дисфункције органа, који су главни узрочници смрти код критично оболелих пацијената са сепсом и траумом. Прецизно су наведени утицаји које цитокин High mobility group box-1 остварује у имунско-инфламаторној каскади у сепси и трауми.

У поглављу Гени и генски полиморфизми су дате базичне информације о структури и функцији гена као и дефиниције и опис појединих типова полиморфизма гена. Посебан осврт је дат о генској секвенци High mobility group box-1, која је локализована на дугом краку хромозома 13.

У петом и шестом поглављу дисертације јасно су изложени предмет, циљеви и хипотезе студије. У студији је утврђена учесталост полиморфизма гена за цитокин HMGB1 и врсте инсульта који активира имунски одговор код критично оболелих пацијената са сепсом и траумом. Анализирана је њихова повезаност са врстом проузроковача инфекције (Грам позитивне, Грам негативне, мешовите бактерије и стерилне хемокултуре) као и са исходом (преживео/умро). Такође, пратиле су се и лабораторијске вредности интерлеукина (IL)- 6, С-реактивног протеина (CRP) и експресије CD64 рецептора на неутрофилима (CD64 index) и њихова повезаност са предикцијом mortalитета код пацијената са сепсом и траумом.

Материјал и методе истраживања су подударни са наведеним у пријави докторске дисертације и презентовани су на одговарајући начин. Истраживање је обављено у виду клиничке, опсервационе студије пресека код пацијената са сепсом и траумом. У студију је укључено 119 критично оболелих хирушких пацијената са SIRS-ом различите етиологије (сепса, траума) у Јединици хирушке интензивне терапије. Пацијенти су подељени у две групе: група СЕПСА и група ТРАУМА. У оквиру сваке од испитиваних група, посебно је испитиван генски полиморфизам цитокина HMGB1 и њихова повезаност са исходом (преживео/умро) и врстом проузроковача инфекције (Грам позитивне, Грам негативне, мешовите бактерије и стерилне хемокултуре). Такође, праћене су лабораторијске вредности три биомаркера инфламације: интерлеукина 6 (IL-6), C –реактивног протеина (CRP) и CD64 indexa и њихова предикциона вредност у прва три дана у односу на исход (преживео/умро). Поступак генотипизације је рађен изолацијом DNA коришћењем комерцијалног кита Gene JET Genomic DNA Purification Kit (Fermentis, Germany), док је одређивање полиморфизма вршено алелском дискриминацијом Real-Time PCR методом.

Резултати истраживања су систематично приказани и добро документовани са 4 табеле и 12 графикана. Студија је показала да су значајна 5 полиморфизма гена за цитокин HMGB1 у популацији пацијената са SIRS-ом (сепса, траума). Показано је да утицај генског полиморфизма цитокина HMGB1 на исход болести (преживео/умро) није статистички сигнификантан. Полиморфизам гена за цитокин HMGB1 на три позиције је био повезан врстом бактеријског проузроковача (Грам позитивне, Грам негативне, мешовите бактерије и стерилне хемокултуре). Полиморфизам гена за цитокин HMGB1 на једној позицији је био повезан са основним обољењем које је довело до сепсе (перитонитис, панкреатитис) у групи СЕПСА. Такође, код испитаника у овом истраживању CD64 index је показао добру дискриминациону снагу у предвиђању болничког морталитета, за разлику од IL-6 и CRP.

У поглављу Дискусија представљена је анализа добијених резултата и њихово поређење са литературним подацима из ове области. Коментари добијених резултата су језгровити, а начин приказивања података чини их прегледним и разумљивим. Резултати су дискутовани у контексту контрадикторних ставова о утицају генског полиморфизма за

цитокин HMGB1 као и за друге цитокине у имунско- инфламаторној каскади, као о и њиховом утицају на исход болести и тежини клиничке слике.

Литература је адекватна по обиму и садржини. Наведени су ставови из најзначајнијих оригиналних и ревијских научних радова поменутог области.

На основу претходно изнетих чињеница, Комисија сматра да докторска дисертација кандидата др Драгана Ђорђевића под називом "**Генски полиморфизми цитокина High mobility group box-1 код критично оболелих пацијената са сепсом и траумом**" по обиму и квалитету израде у потпуности одговара пријављеној теми дисертације.

2.5. Научни резултати докторске дисертације

У овом истраживању је проучаван полиморфизам гена за цитокин **High mobility group box-1** на позицијама rs2249825 [C/T], rs4540927 [G/A], rs19299606 [C/T], rs17074615 [A/C], rs1412125 [T/C], rs1060348 [C/T], rs1045411 [G/A], rs3742305 [G/C] у групи критично оболелих пацијената са сепсом и траумом.

На основу резултата докторске дисертације може се донети закључак да генски полиморфизми односно поједини генски алели (rs2249825 [C/T], rs1045411 [G/A], rs3742305 [G/C]) за цитокин **High mobility group box-1** могу бити повезани са тежином клиничке слике и врстом бактеријског проузроковача (Грам позитивне, Грам негативне, мешовите бактерије и стерилне хемокултуре). Такође, полиморфизам гена за HMGB1 на позицији rs1060348[C/T] је био повезан са основним обољењем које је довело до сепсе (перитонитис, панкреатитис). У литератури су ретке студије које су проучавале повезаност генских полиморфизма за поједине цитокине и бактеријске узрочнике инфекције, те су ови резултати веома занимљиви и интригантни.

Такође, генски полиморфизми за цитокин **High mobility group box-1** нису показали утицај на исход лечења пацијената са сепсом и траумом (преживео/умро). У литератури сличне генетске студије асоцијације су рађене на много већем броју пацијената са контрадикторним подацима, па резултате из овог истраживања треба посматрати у том контексту.

На крају, у овом истраживању биомаркер инфламације CD64 index је показао добру дискриминациону снагу у предикцији болничког морталитета. Ови резултати су потврдили значај овог биомаркера који су у складу са литературним подацима.

2.6. Примењивост и корисност резултата у теорији и пракси

Презентовани резултати истраживања дају оригинални допринос бољем разумевању утицаја генског полиморфизма проинфламаторног цитокина HMGB1 на комплексну имунско- инфламаторну каскаду код пацијената са сепсом и траумом. Одсуство повезаности између појединих генских алела овог цитокина и исхода болести захтева даље истраживање на много већем броју испитаника у тачно дефинисаним популацијама пацијента. Такође, врло су занимљиви подаци ове студије о повезаности појединих генских алела цитокина HMGB1 и бактеријских узрочника инфекције, што може посредно утицати на тежину клиничке слике пацијената са сепсом и траумом.

Спознавањем утицаја који полиморфизми за цитокин HMGB1 имају на исход и ток болести код пацијената са сепсом и траумом теоријски омогућено је испитивање вредности ових полиморфизама као прогностичких предиктора и маркера. Такође, успостављањем релација између полиморфизама, клиничке слике и исхода болести може се остварити значајан допринос у развијању циљне терапије усмерене против проинфламаторних цитокина као што је и HMGB1.

2.7. Начин презентирања резултата научној јавности

Коначни резултати истраживања су планирани за објављивање у виду више радова у часописима од међународног значаја. Такође, планира се петогодишње праћење ових пацијената, након чега ће се објавити публикација која се бави утицајем испитиваних полиморфизама на исход и ток болести код пацијената са сепсом и траумом.

ЗАКЉУЧАК

Комисија за оцену и одбрану завршене докторске дисертације др Драгана Ђорђевића под називом **"Генски полиморфизми цитокина High mobility group box-1 код критично оболелих пацијената са сепсом и траумом"** на основу свега наведеног сматра да је истраживање у оквиру дисертације засновано на савременим научним сазнањима и да је адекватно постављено и спроведено.

Комисија сматра да докторска дисертација кандидата др Драгана Ђорђевића, урађена под менторством Проф. др Јасне Јевђић, представља оригинални научни рад и да је од великог научног и практичног значаја у даљем разумевању комплексних имунских механизма код пацијената са сепсом и траумом.

Комисија са задовољством предлаже Наставно-научном већу Факултета медицинских наука Универзитета у Крагујевцу да докторска дисертација под називом **"Генски полиморфизми цитокина High mobility group box-1 код критично оболелих пацијената са сепсом и траумом"** кандидата асистента др Драгана Ђорђевића буде позитивно оцењена и одобрена за јавну одбрану.

ЧЛАНОВИ КОМИСИЈЕ:

Проф. др Маја Шурбатовић, редовни професор Медицинског факултета ВМА Универзитета одбране у Београду за ужу научну област Анестезиологија и интензивно лечење, председник

Проф. др Звонко Магић, редовни професор Медицинског факултета ВМА Универзитета одбране у Београду за ужу научну област Биологија са хуманом генетиком, члан

Доц. др Иван Јовановић, доцент Факултета медицинских наука Универзитета у Крагујевцу за уже научне области Микробиологија и имунологија и Основи Онкологије, члан

Крагујевац, 26.06.2015.