

1. Одлука Већа за медицинске науке Универзитета у Крагујевцу

Одлуком Већа за медицинске науке Универзитета у Крагујевцу, број IV-03-720/33, од 13. 07. 2016. године, именовани су чланови комисије за оцену научне заснованости теме докторске дисертације кандидата др Горана Пешића, под називом:

„Вредности параметара оксидационог стреса и инфламације код пацијената са преломом кука и бутне кости”

Чланови комисије су:

1. **Проф. др Владимир Јаковљевић**, председник, редовни професор Факултета медицинских наука Универзитета у Крагујевцу за ужу научну област Физиологија,
2. **Доц. др Драгче Радовановић**, члан, доцент Факултета медицинских наука Универзитета у Крагујевцу за ужу научну област Хирургија,
3. **Проф. др Мирослав Миланков**, члан, редовни професор Медицинског факултета Универзитета у Новом Саду за ужу научну област Хирургија,

На основу увида у приложену документацију, Комисија подноси Наставно-научном већу следећи:

2. Извештај о оцени научне заснованости теме докторске дисертације

2.1. Кратка биографија кандидата

Горан Пешић је рођен 15.04.1965. године у Припчићима, Бијело Поље, Република Црна Гора. По националности је Србин. Медицински факултет завршио у Београду 1992. године, отпочео магистарске студије на Медицинском факултету Универзитета у Београду. 2009. године прелази на докторске академске студије на Факултету медицинских наука Универзитета у Крагујевцу, изборно подручје Клиничка и експериментална хирургија.

Специјалистички испит из Ортопедске хирургије положио 2001. године на Медицински факултет у Београду. Радио је као лекар оште праксе у Дому здравља у Бијелом Пољу од 1992-1995. године. Као лекар на специјализацији и специјалиста ради у Општој болници у Бијелом Пољу од 1995-2001. године, када прелази у Клинички центар

Црне Горе – Клиника за ортопедију и трауматологију, где и данас ради. Стручно се усавршавао из области ортопедије – Примена методе по Илизарову у ортопедској хирургији у трајању по један месец 2001, 2002, 2003. године на Институту за ортопедију и хируршке болести „Бањица“ Београд, и у Институту „Академик Илизаров“ - Курган, Русија 2002. године у трајању од 1,5 месеца. 2006. године и 2009. године се усавршавао из примена АО технике у ортопедији и трауматологији у Белеку, Турска, 2005. године: Порто Карас, Грчка, 2007. године: Давос, Швајцарска, у одељењу за ортопедију Института „Др Мирослав Зотовић“ Бања Лука. 2011. и 2013. године.

Председник Удружења ортопеда и трауматолога Црне Горе.

Говори руски, служи се енглеским језиком. Ожењен, отац троје деце.

2.2. Наслов, предмет и хипотеза докторске дисертације

Наслов: „Вредности параметара оксидационог стреса и инфламације код пацијената са преломом кука и бутне кости”

Предмет: Одређивање динамике промена вредности параметара оксидационог стреса, инфламаторних медијатора и масних киселина које су прекурсорни липидних медијатора код пацијената са преломом кука и бутне кости, као и поређење са вредностима утврђеним код здравих особа одговарајуће старости.

Хипотеза: Прелом бутне кости изазива локални инфламаторни одговор у оштећеним ткивима што може да изазиве промене у вредностима параметара оксидационог и антиоксидационе заштите (SOD, CAT, GSHPx), као и промене у вредностима цитокина и масних киселина које су прекурсорни липидних медијатора.

2.3. Испуњеност услова за пријаву теме докторске дисертације

Кандидат је објавио један рад у целини за штампу у рецензираном часопису категорије М52, у коме је први аутор, чиме је испунио услов за пријаву докторске тезе:

Pesic G, Jeremic J, Stojic I, Vranic A, Cankovic M, Nikolic T, Jeremic N, Matic A, Srejavic I, Zivkovic V, Jakovljevic V. Redox status in patients with femoral neck fractures. *Ser J Exp Clin Res* 2016; 17 (3): 199-205; DOI: 10.1515/SJECR-2015-0061 (M52=1,5 бод)

2.4. Преглед стања у подручју истраживања

Бутна кост (*femur*) је највећа и најмоћнија кост екстремитета и главни носилац тежине тела. Бутна кост се може преломити у сваком делу, али као најчешћи издваја се прелом врата бутне кости, односно прелом кука. Преломи врата бутне кости најчешће настају при паду на кук или код директног ударца у предео кука, а подразумевају прелом

горње четвртине бутне кости. Код млађих пацијената преломи кука и бутне кости су врло ретки, а најчешће настају услед снажне трауме (саобраћајне несреће, падови са висине). Код старијих пацијената преломи врата бутне кости су много чешћи, а поред трауме значајну улогу има и смањена минерална густина услед остеопорозе или остеопеније, као и атрофија мишића. Опоравак код старијих пацијената је успорен због лошијег квалитета коштаног ткива, а додатне проблеме представљају компликације које настају као последица дугог лежања. Такође, познато је да је учесталост прелома кука четири пута већа код жена. С обзиром на тренутне демографске промене и дужи животни век, очекује се дупло већи број прелома кука у наредних 40 година. Упркос напретку хируршких процедура и даље постоји висок степен учесталости преоперативних и постоперативних компликација, које негативно утичу на општи исход, квалитет живота и здравствене трошкове.

Оксидациона оштећења ћелија последица су оксидационог стреса. Оксидациони стрес настаје поремећаја равнотеже између продукције реактивних врста кисеоника (*Reactive oxygen species* - ROS) и реактивних врста азота (*Reactive nitrogen species* - RNS) са једне и антиоксидационе заштите са друге стране. Оксидациони стрес дефинисан је као поремећај прооксидативно-антиоксидативне равнотеже у правцу прооксидативне преваге, што доводи до потенцијалних оштећења. Бројна истраживања су се бавила негативним утицајем оксидационог стреса на метаболизам костију, зарастање рана и сам опоравак.

Велики број молекула делује на функцију остеобласта и остеокласта, па самим тим и на процесе формирања и реапсорпције костију. У случају прелома кости развија се локална акутна инфламаторна реакција, и активирају се ћелије имунског система, Т и В-лимфоцити, макрофаги и дендритске ћелије, које продукују велики број инфламаторних медијатора који имају значајну улогу у остеоимунологији. Активирани Т-лимфоцити, због синтезе ресорптивних цитокина, се сматрају доминантним активаторима остеокласта, због чега се сматрају и кључним чиниоцима у остеопорози. Цитокини, као што су фактор туморске некрозе- α (TNF- α) и интерлеукин 6 (IL-6) супримирају функцију остеобласта, а стимулишу активност остеокласта, чиме се индукује реапсорпција, а супримира формирање коштаног ткива.

Липидни медијатори који се секретују из Ω -6 масних киселина (арахидонска киселина - АА) и Ω -3 масних киселина (еикосапентаенска киселина - ЕРА и докозахексаенска киселина - ДНА), су значајни регулатори инфламаторних процеса, при чему медијатори који потичу од Ω -6 масних киселина делују промотивно на запаљенске процесе, док медијатори који потичу од Ω -3 масних киселина, делују супресивно. АА, ЕРА и ДНА потичу из фосфолипида ћелијске мембране, при чему калцијум-зависна цитосолна фосфолипаза катализује хидролизу АА и ЕРА из мембранских фосфолипида, а фосфолипаза А₂ катализује хидролизу ДНА из фосфолипида. Ослобођене масне киселине се превode у одговарајуће липидне медијаторе деловањем ензима циклооксигеназе, липооксигеназе или групе ензима који припадају цитохромима P450, који имају даље ефекте на процесе зарастања костију. Међутим и даље постоје бројни опречни ставови о

дејствима медијатора који потичу од Ω -6 и Ω -3 масних киселина на хомеостазу и регенерацију коштаног ткива, што је последица недовољног познавања механизма дејства липидних медијатора, као и експресије ензима који их синтетишу и одговарајућих рецептора током зарастања прелома.

2.5. Значај и циљ истраживања

Значај студије

С обзиром да су подаци о утицају свих наведених медијатора у системском стресу који изазива прелом кука и бутне кости неусаглашени, у новије време се све већа пажња посвећује проучавању њихове улоге у овом патофизиолошком ентитету.

Студија би обухватила пацијенте са преломом кука и бутне кости, хоспитализоване у Ургентном центру и Клиници за ортопедију и трауматологију Клиничког центра Крагујевац и контролну групу особа одговарајуће старости. Код свих пацијената узимали би се узорци крви за одређивање параметара оксидационог стреса и инфламације. Узорци венске крви пацијената са преломом кука и бутне кости узимали би се у првих 6-12 h након прелома, а потом и првог, трећег и седмог дана након операције. Код особа у контролној групи крв би се узимала једном. Из издвојене плазме би се одређивали параметри оксидационог стреса, из издвојених еритроцита би се мерила активност ензима антиоксидационе заштите. Поред тога би се одређивали и цитокини: фактор туморске некрозе- α (TNF- α) и интерлеукин 6 (IL-6), као и вредности масних киселина које су прекурсори липидних медијатора: арахидонска (AA), еикосапентаенска (EPA) и докозахексаенска киселина (DHA).

Очекују се промене вредности наведених параметара код особа са преломом у односу на особе без прелома, као и промене вредности током постоперативног периода.

Циљ и хипотезе студије

Главни циљ истраживања је одређивање динамике промена вредности параметара оксидационог стреса, инфламаторних медијатора и масних киселина које су прекурсори липидних медијатора код пацијената са преломом кука и бутне кости, као и поређење са вредностима утврђеним код здравих особа одговарајуће старости.

Главна хипотеза студије је да прелом бутне кости изазива локални инфламаторни одговор у оштећеним ткивима што може да изазиве промене у вредностима параметара оксидационог стреса, антиоксидационе заштите, као и промене у вредностима цитокина и масних киселина које су прекурсори липидних медијатора (AA, EPA и DHA).

2.6. Веза истраживања са досадашњим истраживањима

Код старијих пацијената преломи врата бутне кости су много чешћи, а поред трауме значајну улогу има и смањена минерална густина услед остеопорозе или остеопеније, као и атрофија мишића. Опоравак код старијих пацијената је успорен због лошијег квалитета коштаног ткива, а додатне проблеме представљају компликације које настају као последица дугог лежања. Такође, познато је да је учесталост прелома кука четири пута већа код жена. С обзиром на тренутне демографске промене и дужи животни век, очекује се дупло већи број прелома кука у наредних 40 година. Упркос напретку хируршких процедура и даље постоји висок степен учесталости преоперативних и постоперативних компликација, које негативно утичу на општи исход, квалитет живота и здравствене трошкове.

Оксидациона оштећења ћелија последица су оксидационог стреса. Бројна истраживања су се бавила негативним утицајем оксидационог стреса на метаболизам костију, зарастање рана и сам опоравак. Даље, велики број молекула делује на функцију остеобласта и остеокласта, па самим тим и на процесе формирања и реасорпције костију. У случају прелома кости развија се локална акутна инфламаторна реакција, и активирају се ћелије имунског система, Т и В-лимфоцити, макрофаги и дендритске ћелије, које продукују велики број инфламаторних медијатора који имају значајну улогу у остеимунологији. Активирани Т-лимфоцити, због синтезе ресорптивних цитокина, се сматрају доминантним активаторима остеокласта, због чега се сматрају и кључним чиниоцима у остеопорози. Цитокини, као што су фактор туморске некрозе- α (TNF- α) и интерлеукин 6 (IL-6) супримирају функцију остеобласта, а стимулишу активност остеокласта, чиме се индукује реасорпција, а супримира формирање коштаног ткива.

Липидни медијатори који се секретују из Ω -6 масних киселина и Ω -3 масних киселина, су значајни регулатори инфламаторних процеса, при чему медијатори који потичу од Ω -6 масних киселина делују промотивно на запаљенске процесе, док медијатори који потичу од Ω -3 масних киселина, делују супресивно. Ослобођене масне киселине се преводе у одговарајуће липидне медијаторе деловањем ензима циклооксигеназе, липооксигеназе или групе ензима који припадају цитохромима P450, који имају даље ефекте на процесе зарастања костију.

2.7. Методе истраживања

2.7.1. Врста студије

Студија ће бити дизајнирана као проспективна, рандомизирана клиничка студија.

2.7.2. Популација која се истражује

Пацијенти са преломом кука и бутне кости старији од 18 година, са индикацијом за хируршку интервенцију и особе без прелома одговарајуће старости које би чиниле контролну групу. Студија ће се спроводити према принципима Добре клиничке праксе и Хелсиншке декларације (последње важеће верзије) и регулаторним прописима. При укључивању болесника у студију обезбедиће се одобрење надлежног Етичког комитета и добровољни пристанак испитаника уз пуну обавештеност.

2.7.3. Узорковање

Пацијентима који би били укључени у студију узимали би се узорци венске крви у првих 6-12 h након прелома, а потом и првог, трећег и седмог дана након операције. Особама без прелома које чине одговарајућу контролну групу крв би се узимала једном. Након узорковања, центрифугирањем из крви би се одвојили еритроцити од плазме.

Критеријуми за искључивање из студије: Недостатак натколенице/а или потколенице/а непогодних за протезу (непогодним патрљком за протезу сматра се патрљак на коме постоје трофичке промене, стални отоци, гризлице, фистуле, болни неурини, деформитети патрљка, опсежни ожиљци, екстремна атрофија мишића. Оштећење кичмене мождине или периферних нерава (квадриплегија, параплегија и хемиплегија) са или без губитка контроле мокрећа и дефекације. Терцијални стадијуми малигних болести.

2.7.4. Варијабле које се мере у студији

Из издвојене плазме би се одређивали параметри оксидационог стреса: индекс липидне пероксидације (мерен као TBARS), азот-моноксид (NO), у форми нитрита (NO_2^-), супероксид анјон радикал (O_2^-) и водоник пероксид (H_2O_2). Док би се из издвојених еритроцита мерила активност ензима заштите од оксидационих оштећења: супероксид дисмутаза (SOD), каталаза (CAT) и редуковани глутатион (GSH). Из плазме би се одређивале и вредности инфламаторних медијатора, фактора туморске некрозе- α (TNF- α) и интерлеукина 6 (IL-6), као и вредности масних киселина које су прекурсори липидних медијатора, арахидонска (AA), еикосапентаенска (EPA) и докозахексаенска киселина (DHA).

Свим пацијентима ће се узимати анемнеза (хетероанемнеза), радиће се физикални преглед, преоперативно и постоперативно RTG снимање и одговарајућа хируршка интервенција.

2.7.5. Снага студије и величина узорка

Прорачун укупног узорка је заснован на резултатима претходно публикованих студија (17, 18). За прорачун је коришћен Т-тест за везани узорак, двоструко, уз

претпоставку алфа грешке од 0,05 и снаге студије 0,8 (бета грешка 0,2) и уз коришћење одговарајућег рачунарског програма (19). Узимањем у обзир резултата студија израчунат је најмањи узорак од 32 учесника. Имајући у виду могућност искључења неких пацијената из завршне анализе, укупан студијски узорак је утврђен на 40. Контролну групу би се састојала од одговарајућег броја испитаника без прелома.

2.7.6. Статистичка обрада података

Статистичка обрада података ће се вршити на следећи начин: за опис параметара од значаја, у зависности од њихове природе, користиће се: фреквенција, проценти, узорачка средња вредност, узорачка медијана, узорачка стандардна девијација, ранг и 95% интервали поверења, за испитивање нормалности расподеле користиће се тестови *Kolmogorov Smirnov* и *Shapir Wilk*, и графици: хистограм и *normal QQ plot*, за тестирање разлика између параметара, у зависности од њихове природе, користиће се Студентов *t*-тест, *Mann-Whitney* тест, Фишеров тест апсолутне вероватноће, једнофакторска или двофакторска анализа варијансе. Приликом тестирања разлика између параметара, у случају постојања више подгрупа, користиће се *Bonferroni* тест. Статистичка обрада података ће се радити у статистичком пакету *SPSS 18.0 for Windows*.

2.8. Очекивани резултати докторске дисертације

Очекује се да резултати ове студије помогну у бољем разумевању улоге оксидационог стреса, инфламаторних медијатора и липидних медијатора, као и њихове евентуалне интеракције у клиничком исходу, постоперативном опоравку и рехабилитацији пацијената са преломом кука и бутне кости. Поред тога ова сазнања могу бити од користи у измени терапијских алгоритама код ових пацијената.

2.9. Оквирни садржај дисертације

Преломи кука и бутне кости представљају значајан узрок морбидитета и морталитета у групи повреда локомоторног апарата. Циљ ове студије би био да се испитају вредности параметара оксидационог стреса и инфламаторних медијатора током преоперативног и постоперативног периода. Очекују се промене вредности наведених параметара код особа са преломом у односу на особе без прелома, као и промене вредности током постоперативног периода.

3. Предлог ментора

За ментора се предлаже **Проф. др Бранко Ристић**, ванредни професор Факултета медицинских наука Универзитета у Крагујевцу за ужу научну област Хирургија. Предложени наставник испуњава услове за ментора докторских дисертација, у складу са

стандардом 9. за акредитацију студијских програма докторских академских студија на високошколским установама.

3.1. Компетентност ментора

Радови у вези са темом докторске дисертације:

1. **Ristic B**, Rancic N, Maksimovic M, Ignjatovic-Ristic D. The influence of alcohol intoxication on the severity of injuries suffered by drivers in road traffic accidents. *Eur J Trauma Emerg Surg* 2013; 39(4): 363-368.
2. Zečević Luković T, **Ristić B**, Jovanović Z, Rančić N, Ignjatović Ristić D. Complex regional pain syndrome type I in the upper extremity - how efficient physical therapy and rehabilitation are. *Med Glas Ljek komore Zenicko-doboj kantona* 2012; 9(2): 334-340.
3. Devedzic G, **Ristic B**, Stefanovic M, Cukovic S, Lukovic T. Development of 3D parametric model of human spine and simulator for biomedical engineering education and scoliosis screening. *Computer Applications in Engineering Education* 2012; 20(3): 434-444.
4. Stepanović Ž, Živković M, Vulović S, Aćimović LJ, **Ristić B**, Matić A, Grujović Z. High, open wedge tibial osteotomy: Finite element analysis of five internal fixation modalities. *Vojnosanit Pregl* 2011; 68(10): 867-871.
5. Bogosavljević M, Stokić D, Friščić Ž, **Ristic B**. Unstable intertrochanteric fractures: How to prevent uncontrolled impaction and shortening of the femur. *Vojnosanit Pregl* 2011; 68(5): 399-404.
6. **Ristić B**, Popović Z, Adamović D, Devedžić G. Selection of biomaterials in orthopedic surgery. *Vojnosanit Pregl* 2010; 67(10):847-855.
7. Lukovic V, Milosevic D, Devedzic G, Sukic C, Kudumovic M, **Ristic B**. OBR-Prox-Femur Application Ontology Development and Modeling. *Healthmed* 2010; 4(2): 404-416.
8. Filipovic N, Vulovic R, Peulic A, Radakovic R, Kosanic D, **Ristic B**. Noninvasive determination of knee cartilage deformation during jumping. *Journal of Sports Science and Medicine* 2009; 8(3): 584-590.

4. Научна област дисертације

Научна област: Медицина. Ужа научна област: Клиничка и експериментална хирургија - ортопедија.

5. Научна област чланова комисије

1. **Проф. др Владимир Јаковљевић**, председник, редовни професор Факултета медицинских наука Универзитета у Крагујевцу за ужу научну област Физиологија,
2. **Доц. др Драгче Радовановић**, члан, доцент Факултета медицинских наука Универзитета у Крагујевцу за ужу научну област Хирургија,
3. **Проф. др Мирослав Миланков**, члан, редовни професор Медицинског факултета Универзитета у Новом Саду за ужу научну област Хирургија,

Закључак и предлог комисије

1. На основу увида у резултате досадашње научно-истраживачке активности и публиковане радове др Горана Пешића, 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 испита ефекте улоге оксидационог стреса, инфламаторних медијатора и липидних медијатора, као и њихове евентуалне интеракције у клиничком исходу, постоперативном опоравку и рехабилитацији пацијената са преломом кука и бутне кости.

3. 3. Комисија сматра да ће предложена докторска теза др Горана Пешића бити од великог научног и практичног значаја у смислу испитивања утицаја оксидационог стреса, инфламаторних медијатора и липидних медијатора, као и њихове евентуалне интеракције у клиничком исходу, постоперативном опоравку и рехабилитацији пацијената са преломом кука и бутне кости.

4. Комисија предлаже Наставно-научном већу Факултета медицинских наука у Крагујевцу да прихвати пријаву теме докторске дисертације кандидата др Горана Пешића под називом „Вредности параметара оксидационог стреса и инфламације код пацијената са преломом кука и бутне кости” и одобри њену израду.

ЧЛАНОВИ КОМИСИЈЕ:

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

Доц. др Драгче Радовановић, члан, доцент Факултета медицинских наука Универзитета у Крагујевцу за ужу научну област Хирургија

Проф. др Мирослав Миланков, члан, редовни професор Медицинског факултета Универзитета у Новом Саду за ужу научну област Хирургија

Крагујевац, 22. 08. 2016.