

ФАКУЛТЕТ МЕДИЦИНСКИХ НАУКА
УНИВЕРЗИТЕТ У КРАГУЈЕВЦУ
НАСТАВНО-НАУЧНОМ ВЕЋУ

ПРИМЉЕНО. 20.07.12			
Број	Број	Пример	Вредност
00	8954/4-4		

1. Одлука већа за медицинске науке Универзитета у Крагујевцу

Одлуком Већа за медицинске науке Универзитета у Крагујевцу, број IV-03-584/39, од 07. 06. 2017. године, именовани су чланови комисије за оцену научне заснованости теме докторске дисертације кандидата др Филипа Жунића, под називом:

„Значај раног одређивања концентрације IL-33, sST2, галектина-3 и IL-27 у серуму за прогнозу преживљавања код пацијената са сепсом и траумом“

На основу одлуке Наставно-научног већа формирана је комисија у саставу:

- проф. др Драгче Радовановић, ванредни професор Факултета медицинских наука Универзитета у Крагујевцу, ужа научна област Хирургија, председник;
- проф. др Маја Шурбатовић, редовни професор Медицинског факултета Војномедицинске академије Универзитета одбране у Београду, ужа научна област Анестезиологија и интензивно лечење, члан;
- доц. др Јелена Пантић, доцент Факултета медицинских наука у Крагујевцу, ужа научна област Микробиологија и имунологија, члан;

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

2. ИЗВЕШТАЈ

Кандидат др Филип Жунић, испуњава све формалне услове предвиђене Законом о високом образовању и Статутом Факултета медицинских наука у Крагујевцу за пријаву теме докторске дисертације.

2.1. Кратка биографија кандидата

Др Филип Жунић рођен је 11. 07. 1980. у Крагујевцу, Република Србија. Основну школу и Прву крагујевачку гимназију, смер талентованих ученика природно-математичког смера, завршио је са одличним успехом. Медицински факултет

Универзитета у Београду уписао је 1999. године и завршио 2006. године са просечном оценом 9,40.

Од 2008. године до данас запослен је у Служби за анестезију и реанимацију Клиничког центра у Крагујевцу. Специјализацију из анестезиологије са реаниматологијом завршио је 2014. године са успехом „одличан“.

Од 2010. године ради као сарадник у настави, затим као истраживач сарадник на предметима „Ресусцитација 1“, „Ресусцитација 2“ и „Прва помоћ“ на Факултету медицинских наука. Студент је на докторским академским студијама Факултета медицинских наука од 2009. године на изборном подручју: „Клиничка и експериментална хирургија“. Усмени докторски испит положио је 2014. године.

Инструктор је напредне животне потпоре по програму Европског ресусцитационог савета (ERC – European Resuscitation Council). Говори енглески и немачки језик.

2.2 Наслов, предмет и хипотеза докторске дисертације

Наслов: Значај раног одређивања концентрације IL-33, sST2, галектина-3 и IL-27 у серуму за прогнозу преживљавања код пацијената са сепсом и траумом

Предмет: Сепса према најновијој дефиницији представља поремећен имунски одговор домаћина на инфекцију који доводи до поремећаја функције једног или више органа. У серуму пацијената оболелих од сепсе могуће је детектовати бројне цитокине у склопу поремећеног имунског одговора на патогене. Истовремено, бројна стања карактеришу се бурном запаљенском реакцијом, пре чему је она последица значајних оштећења ткива, а не инфекције, попут акутног панкреатитиса у политрауме. Данас расположиви тестови, на првом месту прокалцитонин и С реактивни протеин, не могу са сигурношћу да дијагностикују сепсу нити да је увек разликују од стерилне инфламације. Такође, не пружају много података о прогнози болести. Из тог разлога потребни су нови маркери прогнозе исхода сепсе и маркери који могу што раније од почетка болести, да разликују стерилну инфламацију од инфекције.

Основу терапије сепсе чини антибиотска терапија. Избор адекватне антибиотске терапије зависи у многоме од резултата хемокултуре који су ретко доступни кад се постави дијагноза сепсе, те су потребни маркери чијим брзим одређивањем у серуму би се могло указати на то да ли је реч о грам-позитивној, грам-негативној, мешовитој или стерилној хемокултури.

На основу претходних студија на анималним моделима и мањем броју хуманих студија, за предмет ове студије изабрано је да се концентрације IL-33, sST2, галектина-3 и IL-27 у серуму доведу у везу са прогнозом сепсе, да се испита њихова способност да разликују стерилну инфламацију од сепсе и да се испита корелација серумских концентрација испитиваних биомаркера са резултатима хемокултуре.

Хипотезе:

X₁₀ Повећане концентрације IL-33, sST2, IL-27, галектина-3 у серуму у првом дану болести не указују на већу вероватноћу настанка смртног исхода

X_{1A} Повећане концентрације IL-33, sST2, IL-27, галектина-3 у серуму (појединачно) у првом дану болести указују на већу вероватноћу настанка смртног исхода

X₂₀ Комбинација медијатора IL-33, sST2,IL-27 и галектина-3 не повећава тачност предикције смртног исхода у односу на сваки биомаркер појединачно

X_{2A} Комбинација медијатора IL-33, sST2,IL-27 и галектина-3 повећава тачност предикције смртног исхода у односу на сваки биомаркер појединачно

X₃₀ Серумске концентрације IL-33, sST2,IL-27 и галектина-3 у првом дану болести не могу се користити за разликовање сепсе од стерилне инфламације и није могуће одредити cut-off вредност која пружа задовољавајућу сензитивност и специфичност за разликовање ова два стања

X_{3A} Серумске концентрације IL-33, sST2,IL-27 и галектина-3 у првом дану болести могу се користити за разликовање сепсе од стерилне инфламације и могуће је одредити cut-off вредност која пружа задовољавајућу сензитивност и специфичност за разликовање ова два стања

2.3. Испуњеност услова за пријаву теме докторске дисертације

Др Филип Жунџић објавио је више радова у целости при чему је аутор рада у часопису који излази на једном од светских језика (енглески):

Žunić Filip, Jevđić Jasna, Electroencephalography and its usage in anesthesia. Serbian Journal of Anesthesia and Intensive Therapy 2013;35(1-2):61-68 M52

2.4 Преглед стања у подручју истраживања

Сепса представља један од водећих узрока смрти у Јединицама интензивног лечења, упркос развоју савремених терапијских и дијагностичких метода. Само поуздана дијагноза и рана, агресивна терапија, у оквиру три сата од дијагнозе, може смањити смртност код сепсе.

Постоје бројне теорије о патофизиологији сепсе, које говоре да тежина клиничке слике и исход у многоставно зависе од нивоа про- инфламаторних и анти-инфламаторних цитокина у циркулацији. Како патофизиологија сепсе још увек није потпуно разјашњена, намеће се потреба да се идентификују фактори значајни у

патофизиологији сепсе који могу рано указати на развој сепсе и тако омогућити правовремене терапијске процедуре.

IL-33 је члан фамилије интерлеукина 1, који се код човека конститутивно експримира у бројним ткивима: у епителним ћелијама дуж васкуларног стабла, у фибробластним ретикуларним ћелијама, посебно у епителним ткивима која су изложена спољној средини (кератиноцити коже, мукоза дигестивног тракта, епител пљувачних жлезда). Своја дејства остварује везивањем за свој рецептор (ST2) који се посебно експримира на мастоцитима и Th2 ћелијама индукујући дегранулацију мастоцита и Th2 имунски одговор са продукцијом IL-4, IL-5 и IL-13. На мишијем моделу сепсе изазване лигацијом и пункцијом цекума (CLP – Caecal Ligation and Puncture) показано је да IL-33 појачава миграцију неутрофила на место инфекције, док инхибира продукцију проинфламаторних цитокина у циркулацији што је имало повољан ефекат на преживљавање мишева. У истом раду узет је и серум од пацијената који су боловали од сепсе и од здравих контрола и поређене су добијене вредности концентрације IL-33. Утврђено је да код здравих особа практично нема детектабилног IL-33, док је у серуму 50% пацијената оболелих од сепсе нађен IL-33. Слично је показано у анималном моделу перитонеалне инфекције чији је изазивач *Staphylococcus aureus*, где је давање IL-33 инфицираним мишевима убрзало клиренс бактерија и значајно смањило морталитет. У раду који је поредио концентрацију IL-33 код здравих особа, пацијената са сепсом и пацијената са SIRS-ом без инфекције, показано је да је 3 сата од пријема концентрација IL-33 у плазми значајно већа код пацијената са сепсом него код здравих контрола и пацијената са SIRS-ом. Такође, концентрација IL-33 била је повишена код умрлих, а снижена код преживелих пацијената са сепсом. Нема података из клиничких студија о улогама и кинетици IL-33 у трауми.

sST2 представља циркулишућу форму рецептора за IL-33. Фибробласти су главни извор sST2 и сматра се да је његова функција у плазми да делује као „мамац“ за везивање IL-33 што га спречава да оствари своја дејства преко трансмембранске форме рецептора (ST2L). У студији која је обухватила 95 пацијената са тешком сепсом показано је да је концентрација sST2 значајно већа код пацијената са сепсом и да корелираја са тежином болести и морталитетом. Са друге стране, студија дизајнирана да упореди две врсте шока, кардиогени и септични, није показала значајну разлику у концентрацијама sST2 између ова два стања, нити је концентрација sST2 била од значаја за прогнозу морталитета. У студији која је поредила трауматизоване пацијенте без сепсе и пацијенте са сепсом показало се да је sST2 значајно већи код пацијената са сепсом. Такође, код трауматизованих пацијената који су преживели концентрација sST2 је била значајно већа него код умрлих пацијената. Код септичних пацијената није било разлике у концентрацији sST2 код преживелих у односу на умрле.

Галектин 3 је бета-галактозид везујући лектин. Доминантно је експримиран на ћелијама урођене имуности попут макрофага. Галектин 3 може да се екстернализује, било пасивно, било активно и везивањем за лиганде доводи до преноса сигнала и активирања ћелијских функција. У студији на 127 пацијената, концентрација галектина-3 у серуму била је значајно виша код пацијената код којих је запаљење било инфективне

етиологије у односу на пацијенте са неинфективном етиологијом запаљења. При том је показано да је сензитивност галектина-3 већа од сензитивности CRP. Студија на пацијентима са тешком траумом мозга показале су да је галектин -3 у циркулацији значајно виши код пацијената у односу на здраве контроле и да су независни предиктор интрахоспиталног морталитета код тих пацијената.

IL-27 је хетеродимер који се састоји из Епштајн-Баровим вирусом индукованог гена 3 (такође познат и као IL-27B) и IL27-p28. Продукују га антиген презентујуће ћелије у одговору на инфламаторне стимулусе и производе микроорганизма. Анализом експресије гена код пацијената са SIRS-ом неинфективне етиологије и пацијената са позитивним хемокултурама тек 2012. године узет је у разматрање као потенцијални биомаркер за сепсу. Показано је да може да буде користан биомаркер за процену ризика од бактеријске инфекције у педијатријској популацији са инфекцијом крвотока. Студија исте групе аутора на одраслима је показала да IL-27 није значајан биомаркер за сепсу и да слабо разликује стерилну инфламацију од сепсе. Нема радова који говоре о IL-27 у трауми.

2.5 Значај и циљ истраживања

У клиничком раду употребљава се неколико маркера за сепсу (прокалцитонин, С реактивни протеин) међутим и даље постоји потреба за откривањем додатних биомаркера прогнозе исхода и дијагнозе сепсе. Утврђивање повезаности концентрације IL-33, IL-27, sST2 и галектина-3 у првом дану болести са исходом сепсе имало би стога велики клинички значај у правовременом откривању пацијената који имају повећан ризик од смртног исхода како би се на време планирале адекватне, агресивније терапијске мере.

Уколико буде доказана, повезаност испитиваних медијатора и резултата хемокултуре могла би да уведе измене у прописивању емпиријске антибиотске терапије.

Основни циљ овог истраживања је да се испита повезаност концентрације IL-33, sST2, галектина-3 и IL-27 у серуму, у првом дану болести, са прогнозом преживљавања пацијената оболелих од сепсе

Експериментални задаци су:

-испитати повезаност концентрације IL-33, sST2, галектина-3 и IL-27 у серуму са смртним исходом зависно од етиологије сепсе (акутни панкреатитис, дифузни перитонитис, политраума са сепсом и политраума без сепсе)

-одређивање ROC криве и израчунавање „cut-off“ вредности, сензитивности и специфичности концентрације IL-33, sST2, галектина-3 и IL-27 у серуму за предикцију смртног исхода

-испитати корелације концентрације IL-33, sST2, галектина-3 и IL-27 у серуму са резултатима хемокултуре

- одређивање ROC криве и израчунавање „cut-off“ вредности, сензитивности и специфичности концентрације IL-33, sST2, галектина-3 и IL-27 у серуму за разликовање стерилне инфламације од сепсе код политрауматизованих пацијената

2.6 Веза истраживања са досадашњим истраживањима

До сада је показано да IL-33 има улогу у патогенези сепсе на анималном моделу, али су студије на критично оболелим пацијентима малобројне и рађене на малом броју пацијената. Истовремено, сви септични пацијенти третирани су као једна хомогена група, без узимања у обзир патологије која је довела до сепсе. У овом истраживању пратиће се посебно три најчешћа узрока сепсе: акутни панкреатитис, траума и дифузни перитонитис.

Галектин-3 практично није испитиван код септичних пацијената, али јесте показано да може да разликује запаљенски синдром неинфективне и инфективне етиологије. Веза са посебним стањима која доводе до сепсе (акутни панкреатитис, дифузни перитонитис, траума) није испитивана.

Истраживања која су испитивала sST2 у сепси су контрадикторна, односно док једни аутори тврде да sST2 корелира са исходом сепсе, други аутори то нису могли да докажу. У том смислу, могућност употребе sST2 за процену исхода сепсе је и даље отворено питање.

IL-27 као новоидентификовани маркер прогнозе сепсе је слабо испитан. Као предиктор морталитета показао се добро у педијатријској популацији, али исти резултати, иако су очекивани, нису добијени у популацији одраслих.

Четири наведена маркера у досадашњим истраживањима нису евалуирани истовремено и није познат њихов међусобни однос ни у сепси, ни у трауми.

2.7. Методе истраживања

2.7.1. Врста студије

Клиничка нерандомизована проспективна кохортна студија

2.7.2. Популација која се истражује

У студији ће учествовати пунолетни пацијенти оба пола Одељења интензивне неге Клинике за анестезиологију Војномедицинске академије у Београду (ВМА) који су примљени ради лечења сепсе која је настала у склопу акутног панкреатитиса, дифузног перитонитиса или трауме. У студију ће бити укључени и тешко трауматизовани пацијенти који немају сепсу.

2.7.3. Узорковање

Пацијентима се у прва 24 сата од пријема узима један узорак венске крви (10 ml) ради одређивања серумског нивоа испитиваних маркера. Анализе ће се радити у Одељењу за

клиничку и експерименталну имунологију Института за медицинска истраживања ВМА.

2.7.4. Варијабле које се мере у студији

Концентрације медијатора у серуму (IL-33, sST2, галектин-3, IL-27) одређене комерцијалним ELISA китовима по упутству произвођача.

Преживљавање пацијента 28. дана хоспитализације

Резултати хемокултуре

2.7.5. Снага студије и величина узорка

Потребно је детектовати разлику у преживљавању пацијената у зависности од нивоа медијатора у серуму (преживели vs. умрли пацијенти) . На основу литературе минимална очекивана разлика у галектину-3 између преживелих и умрлих је 80%. За снагу студије (β) од 80% и α вероватноћу 0,05 израчунати број пацијената је најмање 128 – по 64 у свакој групи. Због великих стандардних девијација и постојања две независне групе примењен је Wilcoxon-ов тест. За анализу је коришћен софтверски пакет GPower 3.1.

2.7.6. Статистичка анализа

Статистичка обрада података биће урађена софтверским пакетом SPSS 18. Већина варијабли ће бити представљена као учесталост појединих категорија, а статистичка значајност тестираће се χ^2 -квадрат тестом.

У случају континуираних варијабли, подаци ће бити представљени као средња вредност +/- SD, медијана и минимална и максимална вредност. Колмогоров-Смирнов тест ће се користити за процену дистрибуције података. Статистична значајност одређиваће се Kruskal-Wallis-овим тестом или Mann-Whitney тестом.

За утврђивање корелације између параметара користиће се Спирманова анализа корелације. Сензитивност, специфичност и „cut-off“ вредности концентрације IL-33, ST2, галектина-3 и IL-27 у серуму у односу на процену исхода сепсе биће одређене помоћу ROC криве.

Статистичка значајност ће се процењивати узимајући у обзир ниво вероватноће $p < 0,05$.

2.8. Очекивани резултати докторске дисертације

На основу досадашњих података из литературе, очекује се да концентрације IL-33, sST2, галектина-3 и IL-27 у серуму буду значајно веће код пацијената са смртним исходом. Очекује се да истовремено одређивање концентрације и истовремена процена ова четири маркера значајно повећава могућност да се идентификују ризични пацијенти у односу на сваки маркер појединачно.

Код пацијената са позитивним хемокултурама очекује се већа концентрација испитиваних маркера у односу на пацијенте са негативним хемокултурама.

Очекује се и да концентрација испитиваних маркера код трауматизованих пацијената буде значајно већа код пацијената који имају сепсу у односу на трауматизоване пацијенте без сепсе, тј. да је могуће разликовати стерилну инфламацију од сепсе конструкцијом одговарајуће ROC криве и одређивањем „cut-off“ вредности испитиваних маркера.

2.9. Оквирни садржај дисертације

У оквиру ове студије пратиће се 151 пацијент лечен од сепсе у склопу акутног панкреатитиса, дифузног перитонитиса или трауме, као и тешко трауматизовани пацијенти. У прва 24 сата од пријема на Одељење интензивне неге Клинике за анестезиологију и реаниматологију ВМА овим пацијентима ће се узети један узорак венске крви из којег ће се одредити концентрације IL-33, sST2, галектин-3 и IL-27 у серуму. Пратиће се резултати хемокултуре добијени током хоспитализације и преживљавање 28. дана од хоспитализације.

Посебна пажња посветиће се анализи концентрације испитиваних медијатора и какав је утицај то имало на исход болести испитиваних пацијената. Испитаће се и међусобне корелације испитиваних медијатора, као и повезаност са резултатима хемокултуре.

3. Предлог ментора

Комисија за ментора ове докторске дисертације предлаже **проф. др Јасну Јевђић**, редовног професора Факултета медицинских наука у Крагујевци, ужа научна област Хирургија. Проф. др Јасна Јевђић испуњава све услове прописане стандардом 9 за менторе докторских дисертација и истовремено поседује одговарајуће стручне и научне компетенције које су у вези са предлогом темом и методологијом истраживања.

3.1. Компетентност ментора (навести радове предложеног ментора који су у вези са темом докторске дисертације)

1. Surbatovic M, Jevdjic J, Veljovic M, Popovic N, Djordjevic D and Radakovic S. Immune response in severe infection: Could life-saving drugs be potentially harmful? *The Scientific World Journal* 2013; 2013:961852
2. Surbatovic M, Veljovic M, Jevdjic J, Popovic N, Djordjevic D and Radakovic S. Immunoinflammatory response in critically ill patients: severe sepsis and/or trauma. *Mediators of Inflammation* 2013;2013:362793
3. Novović M, Jevdjić J. Prediction of mortality with unmeasured anions in critically ill patients on mechanical ventilation. *Vojnosanit Pregl Vojnosanit Pregl* 2014; 71(10):936-941.
4. Djordjevic D, Pejovic J, Surbatovic M, Jevdjic J, Radakovic S, Veljovic M, Peric A, Andjelic T, Popovic N. Prognostic value and daily trend 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; 34:1-9.

5. Surbatovic M, Popovic N, Vojvodic D, Milosevic I, Acimovic G, Stojicic M, Veljovic M, Jevdjic J, Djordjevic D and Radakovic S. Cytokine Profile in Severe Gram-Positive and Gram-Negative Abdominal Sepsis. Scientific Reports 2015. DOI: 10.1038/srep11355

4. Научна област дисертације

Медицина, изборно подручје: Клиничка и експериментална хирургија

5. Научна област чланова комисије

1. проф. др Драгче Радовановић, ванредни професор Факултета медицинских наука Универзитета у Крагујевцу, ужа научна област Хирургија, председник;
2. проф. др Маја Шурбатовић, редовни професор Медицинског факултета Војномедицинске академије Универзитета одбране у Београду, ужа научна област Анестезиологија и интензивно лечење, члан;
3. доц. др Јелена Пантић, доцент Факултета медицинских наука у Крагујевцу, ужа научна област Микробиологија и имунологија, члан;

Закључак и предлог Комисије

1. Комисија је предложена тему изменила у погледу наслова теме докторске дисертације, а направљене су и мање измене у делу циљеви и хипотезе и очекивани резултати у смислу јаснијег и прецизнијег образложења.
2. На основу досадашњег научно-истраживачког рада и публикованих радова Комисија је закључила да кандидат др Филип Жунић испуњава све услове прописане Статутом Факултета и законом о Универзитету за одобрење теме и израду докторске дисертације.
3. Предложена тема је научно оправдана и оригинална, дизајн истраживања прецизно постављен и дефинисан, методологија је јасна.
4. Комисија сматра да ће предложена докторска теза др Филипа Жунића бити од научног и практичног значаја јер ће помоћи у разумевању патогенезе сепсе и запаљенског синдрома у трауми и откривању потенцијалних биомаркера неповољне прогнозе болести, што све може имати значајне терапијске импликације.
5. Комисија предлаже Наставно - научном већу Факултета медицинских наука Универзитета у Крагујевцу да прихвати тему докторске дисертације кандидата др Филипа Жунића: „Значај нивоа серумског IL-33, sST2, галектина-3 и IL-27 у раној сепси за прогнозу преживљавања код критично оболелих и повређених пацијената“ и одобри њену израду уз корекцију наслова у: „Значај раног одређивања концентрације IL-33, sST2, галектина-3 и IL-27 у серуму за прогнозу преживљавања код пацијената са сепсом и траумом“.

ЧЛАНОВИ КОМИСИЈЕ

1. проф. др Драгче Радовановић,
ванредни професор Факултета медицинских наука Универзитета у Крагујевцу, ужа
научна област Хирургија, председник;

2. проф. др Маја Шурбатовић,
редовни професор Медицинског факултета Војномедицинске академије Универзитета
одбране у Београду, ужа научна област Анестезиологија и интензивно лечење, члан;

Šurbatović Maја

3. доц. др Јелена Пантић,
доцент Факултета медицинских наука у Крагујевцу, ужа научна област
Микробиологија и имунологија, члан;

Јелена Пантић

У Крагујевцу

13. 07. 2017. године