

09.09.2020

05 7205

УНИВЕРЗИТЕТ У КРАГУЈЕВЦУ
ФАКУЛТЕТ МЕДИЦИНСКИХ НАУКА
НАСТАВНО-НАУЧНОМ ВЕЋУ

1. Одлука Већа за медицинске науке Универзитета у Крагујевцу

Одлуком Већа за медицинске науке Универзитета у Крагујевцу, број IV-03-491/11 од 20.07.2020. године, именовани су чланови комисије за оцену научне заснованости теме докторске дисертације кандидата **Јелене Џековић** под називом:

„Клинички значај одређивања концентрације фекалног калпротектина код превремено рођене деце“

На основу одлуке Већа за медицинске науке, формирана је комисија у саставу:

1. Проф. др **Биљана Вулетић**, редовни професор Факултета медицинских наука Универзитета у Крагујевцу за ужу научну област Педијатрија, председник;
2. Проф. др **Зоран Игрутиновић**, ванредни професор Факултета медицинских наука Универзитета у Крагујевцу за ужу научну област Педијатрија, члан;
3. Проф. др **Милош Јешић**, ванредни професор Медицинског факултета Универзитета у Београду за ужу научну област Педијатрија-неонатологија, члан.

На основу увида у приложену документацију, Комисија подноси Наставно-научном већу Факултета медицинских наука Универзитета у Крагујевцу следећи:

2. Извештај о оцени научне заснованости теме докторске дисертације

Кандидат **Јелена Џековић**, испуњава све формалне услове предвиђене Законом о високом образовању и Статутом Факултета медицинских наука у Универзитету у Крагујевцу за пријаву теме докторске дисертације.

2.1. Кратка биографија кандидата

Др **Јелена Џековић**, лекар на специјализацији из педијатрије, рођена је 25.04.1986. године у Крагујевцу. Медицинску школу завршила у Крагујевцу са одличним успехом. Медицински факултет у Крагујевцу уписала је школске 2005/2006, а дипломирала је у новембру 2011. године са просечном оценом 9,03 и тиме стекла звање доктора медицине. Волонтирала на Клиници за хематологију, КЦ „Крагујевац“ од фебруара 2013. до августа 2014. године. Као клинички лекар радила у одељењу неонатологије ГАК, КЦ „Крагујевац“

од августа 2014. до јануара 2017. године, а од октобра 2017. године примљена у стални радни однос у Центру за неонатологију, Клинике за педијатрију КЦ „Крагујевац“. Специјализацију из педијатрије уписала је 2018. године на Факултету медицинских наука у Крагујевцу. Последипломске студије, смер Хумана репродукција и развој уписала је 2013. године, а усмени докторски испит положила је у септембру 2015. Члан је лекарске коморе Србије.

2.2. Наслов, предмет и хипотезе докторске тезе

Наслов: „Клинички значај одређивања концентрације фекалног калпротектина код превремено рођене деце“

Предмет: Анализа улоге фекалног калпротектина, као раног неинвазивног скрининг теста инфламације/инфекције или утицаја стресогених фактора на дигестивни тракт, превремено рођеног новорођенчета.

Хипотезе испитивања:

1. Демографске карактеристике испитаника (пол, гестацијска старост, тежина при рођењу, начин завршетка порођаја и постнатална старост) неће значајније утицати на меконијалне вредности калпротектина.
2. Болести мајке и пре/постнатална примена антибиотика неће значајније утицати на фекалне концентрације калпротектина, док ће перинатална асфиксija, интолеранција ентералне исхране и инфламација/инфекција представљати ризикофакторе за пораст вредности фекалног калпротектина.
3. Превремено рођена деца на суплементацији пробиотиком имаје мање вредности Ф-калпротектина и бољу толеранцију ентералне исхране, у односу на испитанike који су примали плацебо.

2.3. Испуњеност услова за пријаву теме докторске дисертације

Кандидат, Јелена Џековић је објавила рад у целини на енглеском језику, у часопису са рецензијом, категорије M51, у коме је први аутор, чиме је стекла услов за пријаву теме докторске дисертације.

1. Ceković J, Ristić D, Igrutinović Z, Vuletić B, Stojković A, Vujić A, Medović R, Stanojević M, Simović A. Femoral artery thrombosis in a very-low-birth weight preterm newborn. Ser J Exp Clin Res! 2017; doi: 10.2478/sjercr-2018-0053. M51

2.4. Преглед стања у подручју истраживања

Фекални (Φ) - калпротектин је протеински комплекс од 36,5 kDa који служи за везивање калцијума и цинка и припада породици протеина S-100 који чине око 60% растворљивих цитосолних протеина у неутрофилма. Такође је присутан у моноцитима, макрофагима и епителним ћелијама дигестивног тракта. Регулише инфламаторне процесе и има антимикробна и антипролиферативна својства. Калпротектин се ослобађа након запаљенског процеса у цревима и може се детектовати у фецесу и плазми, при чему је његова концентрација у стомачици око шест пута већа од плазме.

С обзиром да се Φ -калпротектин углавном излучује из неутрофила, који насељавају лумен дигестивног тракта, све више се испитује његова потенцијална улога као неинвазивног дијагностичког скрининг тесла инфламације или утицаја стресогених фактора, на дигестивни тракт новорођенчета (респираторни дистрес синдром, перинатална асфиксija, полицитемија, неки лекови и слично). Такође, све већи значај придаје му се и као раном неинвазивном маркеру некротичног ентероколитиса (НЕК), у субпопулацији превремено рођене деце.

Патомеханизам НЕК-а карактерише развој упале са значајним учешћем неутрофила, као резултат незрelog одговора ентероцита на бактеријску стимулацију и започињање оралног храњења. Још увек није доволно испитана улога Φ -калпротектина у дијагнози НЕК-а, посебно у његовим раним фазама. Ипак, значајна корелација овог параметра са акутним НЕК-ом је важна информација за неонатологе, јер може бити од користи за његову проспективну процену. Пораст вредности Φ -калпротектина, током серијског мерења код превремено рођене деце са сусpektnim НЕК-ом може омогућити рану дијагнозу и помоћи у предвиђању крајњег исхода.

2.5. Значај и циљ истраживања

У том контексту, од научног је интереса да се побољша разумевање фактора који утичу на излучивање Φ -калпротектина код превремено рођене деце, што се огледа у циљевима ове студије:

1. Одредити референтни ранг за Φ -калпротектин у субпопулацији терминске и претерминске новорођенчади, без знакова гастроинтестиналних оболења.
2. Утврдити перинаталне факторе, који могу утицати на излучивање калпротектина у меконијалној стомачици.
3. Испитати да ли у субпопулацији превремено рођене деце, храњене искључиво специјално адаптираном млечном формулом, суплементација пробиотиком има протективни утицај на гастроинтестинални тракт.

2.6. Веза истраживања са досадашњим истраживањима

Претрагом литературе прикупљене детаљним претраживањем биомедицинских база података "Medline" и "Kobson" помоћу следећих кључних речи: "preterm newborn", "fecal calprotectin", "enteral intolerance", "probiotic", "necrotising enterocolitis" у Србији нису пронађене студије сличног дизајна и методолошког приступа, док је у свету још увек недовољан број студија које се баве овом проблематиком.

У досадашњим истраживањима навођени су извесни ендогени и егзогени фактори који могу утицати на вредности фекалног калпротектина, у неонаталном добу, али узрочно-последична веза није за све факторе чврсто успостављена. Озбиљност основне болести, уз постојећу незрелост, започињање оралног храњења или дуготрајно излагање антибиотицима, парентералној исхрани и другим лековима могу представљати значајне стресогене факторе, који доводе до пораста вредности фекалног калпротектина, у одсуству клинички евидентног гастроинтестиналног оболења. Са друге стране, у публикованим истраживањима пораст Ф-калпротектина, у популацији превремено рођене деце није увек претходио клиничким знацима НЕК-а и у многим случајевима појављивао се касније него радиографски докази. Последњих године се све више анализира и потенцијална протективна улога пробиотика, при чему истраживачи указују на сифнификантан пад вредности ф-калпротектина и бољу толеранцију ентералне исхране, након њихове суплементације.

2.7. Методе истраживања

2.7.1. Врста студије

У Центру за неонатологију, Клинике за педијатрију и породилишту Гинеколошко-акушерске клинике, Клиничког центра у Крагујевцу проспективно ће се прикупљати подаци, у временском интервалу од јануара 2018. до јануара 2021. године, а затим ће се извршити ретроспективно-опсервациона („case-control“) анализа. Испитаници ће се селектовати по принципу случајног узорка. За спровођење ове студије добијено је одобрење Етичког комитета Клиничког центра у Крагујевцу (у приложеној документацији).

2.7.2. Популација која се истражује

Експерименталну групу чиниће превремено рођена деца, уколико испуњавају следеће критеријуме:

1. гестациска старост <37 недеља,
2. порођајна тежина <2500 грама,
3. одсуство било које болести, осим оних везаних за превремено рођење,

4. исхрана специјално адаптираном млечном формулом за превремено рођену децу, са или без додатка делимичне парентералне исхране (Ваминалакт и солувит);
5. постнатална старост ≤ 5 дана у моменту првог колектовања стомачице;

Контролну групу чиниће здрава, терминска новорођенчад, од 37-ме до 41,6 г.н., рођена из уредне, контролисане трудноће, храњена млеком властите мајке и узраста до 5 дана живота, у моменту првог колектовања стомачице.

Искључујући критеријуми:

1. смртни исход у прва 24 сата;
2. гестацијска старост < 24 недеље;
3. постнатална старост > 5 дана у моменту првог колектовања стомачице;
4. конгениталне аномалије од клиничког значаја;
5. хромозомске аберације;
6. урођене метаболичке болести;
7. транспорт у установу вишег ранга;

2.7.3. Узорковање

За спровођење испитивања би се користили подаци из епикризе и друге доступне медицинске документације, као и током рутински спроведених процедура које се користе у циљу дијагностиковања и лечења новорођене деце у Клиничком центру „Крагујевац“. Свим испитаницима калпротектин ће се одређивати из прве, јутарње меконијалне стомачице (колектоване до 10h ујутро), током првих 5 дана живота. Вредности Ф-калпротектина биће анализиране на апарату Алегрија, Елиса техником.

Група превремено рођене деце ће према гестацијској старости бити подељена на следеће подгрупе: 1. од 24-те до 28. г.н.; 2. од 28,1 до 33,6 г.н.; 3. од 34,0 до 36,6 г.н. Код испитаника на суплементацији пробиотиком (soj Lactobacillus rhamnosus GG) у трајању од 2 недеље, вредности Ф-калпротектина биће поново одређиване у 3-ој недељи живота, ради поређења вредности.

Комплетна крвна слика (ККС) одређивање се из капиларне крви, апаратом NIHON KOHDEN Celltae E или BECKMAN COULTER;

- Однос незрелих (несегментованих) и зрелих неутрофила (engl I/T ratio) одређивање се из размаза периферне крви, обожене Giemsa и May Gruenwald бојама, под микроскопом NIHON ECLIPSE E 400
- уреа, креатинин и С-реактивни протеин (CRP) одрживање се имуно-турбидиметријским тестом на апарату AU 400,

- прокалцитонин:(PCT), електро- хеми- луминесцентним имуно тестом на апарату COBAS e 411
- pH, BE, HCO₃, лактати, гликемија, натријум (Na⁺), калијум (K⁺), јонизовани калцијум (Ca⁺⁺) и гликемија одређиваће се из капиларне артеријализоване крви, апаратом GEM Premier 3000;
- хемокултура (рутински узета при пријему у Одељење интензивне неге Центра за неонатологију); У микробиолошкој лабораторији КЦ Крагујевац уобичајено се врши анализа узорака култивисањем на хранљивој подлози, сложеном техником бојења по Граму;

2.7.4. Варијабле

Независне варијабле:

- пол (М/Ж)
- телесна маса (ТМ) испитаника, изражена у грамима;
- гестацијска старост (ГС), изражена у недељама (процењивана у <12h порођењу, на основу морфолошких и неуролошких критеријума, по Dubowitzu из 1970. и Ballard-овојиз 1979. год.);
- Начин порођаја (вагинални, царски рез);
- антенатална примена лекова (стериоиди-Dexamethason, антибиотици, антихипертензиви, прогестерон и сл.);
- интраутерусни застој раста, (дефинисан као ПТМ испод десетог перцентила за ГС);
- Силверман скор при пријему (клиничка процена респираторног дистреса по Silverman W. and Anderson D.Pediatrics 17:1, 1956.);

Збуњујуће варијабле:

- постнатална старост, (у моменту колектовања стомице -изражена у данима);
- тип ентералне исхране (млеко властите мајке, прематурна адаптирана млечна формула, са или без додатка делимичне парентералне исхране);
- запремина ентералног оброка (изражена у ml/kg/ дан);
- постнатална примена лекова : антибиотици, пробиотик, антацид (ДА/НЕ);

- примена инотропа (ДА/НЕ);
- пратеће болести труднице (гестацијски дијабетес мелитус, хориоамнионитис, пре/еклампсија и сл.);
- меконијална плодова вода (ДА/НЕ);
- примена механичке вентилације (ДА/НЕ);
- фатални сход (ДА/НЕ, узраст у данима када је настао фатални исход: првих 7 дана рани, после 7 дана касни морталитет).

Зависне варијабле:

- Фекални калпротектин (под референтним рангом, у лабораторији КЦ „Крагујевац“ за одрасле се сматрају вредности $\leq 50\mu\text{g/g}$ столице);
- Апгарскор у 5. мин (клиничка процена виталности новорођеног детета вршена према скали V. Apgar из 1953. год.);
- коморбидитет од клиничког значаја:
- конатална сепса (позитивна хемокултура или леукопенија: бр. леукоцита $<5000 \times 10^9$ на 9/l; леукоцитоза $>30000 \times 10^9$ на 9/l леукоцита, до 4-ог дана живота или $>20000 \times 10^9$ на 9/l леукоцита после 4-ог дана живота; тромбоцитопенија: бр. тромбоцита $<150000 \times 10^9$ на 9/l; CRP $> 20\text{mg/l}$; PCT $> 0,5\text{ng/ml}$ после 4-ог дана живота);
- некротизирајући ентероколитис (класификован према клиничко-радиографским знацима по Bellu у три стадијума, гас у вени порте и др.)
- Болест хијалиних мембрања или идиопатски РДС (радиографски степенован према критеријумима M Paetzel-a у 4 стадијума);
- перинатална асфиксija (ПА): анамнезни подаци о феталној асфиксiji (меконијална плодова вода/измењена срчана радња на кардистокографу) и/или гинеколошко-опстетричким компликацијама (неправилно усађена постељица, превремена абрупција плаценте, пролапс пупчника, руптура утеруса, акушерске интервенције праћене извесним степеном трауме и др.);
- кардио-респираторна и неуролошка депресија дефинисана Апгар скором <4 у 1 мин. и <7 у 5 мин. по рођењу; метаболичка ацидоза, (дефинисана као ниво лактата $>3,7 \text{ mmol/l}$ у првих 1-12 сати, по рођењу); респираторни дистрес; конвулзије $<48\text{h}$,

хипотонија или кома; хипотензија и/или олигурија; мултиорганска инсуфицијација (3 или више органа).

- полицитемија (периферни венски хематокрит $>0,65\%$);
- превремена руптура плодових овојака $\geq 18\text{h}$;
- лоша толеранција ентералне исхране (дефинисана као прекид ентералне исхране сваког дана, током недељу дана, од дана када су добијени фекални узорци. Након клиничке процене лекара, ентерална исхрану ће бити прекинута уколико је постојао значајан остатак желудачног аспирата, абдоминална дистензија и/или крв у столици. Када је ентерална исхрана прекидана због примене ибупрофен (за затварање дуктус артериозуса) или постекстубационо НЕЋЕ се сматрати догађајима лоше толеранције ентералне исхране);
- Биохемија (ККС, CRP, PCT, гликемија, уреа, креатинин, Na^+ , K^+ , Ca^{++} , pO_2 , pCO_2 , pH , ВЕ, HCO_3 , лактати);

2.7.5. Снага студије и величина узорка

Величина узорка израчуната је на основу недавно објављене студије (Moussa R, Khashana A, Kamel N, Elsharqawy SE. Fecal calprotectin levels in preterm infants with and without feeding intolerance. J Pediatr (Rio J). 2016. <http://dx.doi.org/10.1016/j.jped.2015.11.007>) током које су одређиване вредности фекалпротектина код превремено рођене деце са и без интолеранције ентералне исхране. Студијски узорак је израчунат употребом компјутерског програма G* power 3.1.9. при чemu су дефинисани почетни параметри за снагу студије 80% и вероватноћа трешке првог типа (α) од 0,05 за двосмерно тестирање хипотезе. На основу наведених параметара применом t-теста израчунато је да је потребна величина узорка у испитиваној групи најмање 61 испитаник, односно укупан број испитаника би требало да износи 122.

2.7.6. Статистичка обрада података

За анализу основних клиничких карактеристика испитаника користиће се дескриптивана статистика-аритметичка средина, стандардна девијација и проценти. За приказивање средњих вредности биохемијских маркера и варијабли, чија расподела није била нормална користиће се дескриптивана статистика-медијана, квартили и проценти. За поређење средњих вредности варијабли две популације примениће се Mann-Whitney-евтест, а за поређење средњих вредности варијабли више популација Kruskal-Wallis-ов тест. Корелација два нумеричка обележја испитиваће се помоћу Spearman-овог коефицијента корелације. За испитивање утицаја једне или више варијабли на једну бинарну варијаблу

користиће се униваријантна и мултиваријантна бинарна логистичка регресија. Да ли је нека нумеричка варијабла погодна да буде маркер биће испитивано помоћу ROC кривих.

2.8. Очекивани резултати докторске дисертације

Високе концентрације калпротектина у првом меконијуму код превремено рођене и терминске новорођенчади потврђују хипотезу физиолошке улоге неутрофила, у одговору на присуство бактерија или њихових продуката, већ у периоду развоја интестиналног тракта фетуса. Ефекат интерреакције између цревних бактерија и развоја фетуса може имати и касне последице, укључујући развој гастроинтестиналних, алергијских и метаболичких оболења. Досадашња истраживања указују на то да би одређивање калпротектина у фецесу новорођене деце могло бити од клиничког значаја, будући да је он код одраслих већ валидирање као сензитиван маркер инфламаторних болести црева (Кронова болест, улцерозни колитис). Слично, у педијатријској популацији ниво ф-калпротектина је анализиран код хроничне диареје или неких функционалних оболења дигестивног тракта (иритабилни колон, инфантилне колике или рекурентни абдоминални бол). Због великих интер- и интра-индивидуалних варијација прецизно одређивање граничних вредности за Ф-калпротектин остаје и даље недостижан циљ, па се предложене граничне вредности, у зависности од аутора крећу у распону од 200 до 2000 µg/g фецеса. Фактори који утичу на његово излучивање у популацији новорођене деце су непотпуно познати и даље контроверзни. Већина аутора не налази значајну разлику у нивоу ф-калпротектина, у односу на гестацијску старост или тежину при рођењу, док извесни аутори сугеришу да је ниво Ф-калпротектина већи код деце рођене царским резом, у односу на вагинални порођај, или да је у позитивној корелацији са постнаталном старошћу. Начин исхране (природна/вештачка), обим (волумен) ентералне исхране, интолеранција ентералне исхране, као и промене у микрофлори дигестивног тракта (бактеријска колонизација дигестивног тракта и пренатална и/или постнатална примена антибиотика) такође могу имати значајан утицај на ниво ф-калпротектина, у неонаталном добу.

2.9. Оквирни садржај докторске дисертације

Циљ овог истраживања је анализа фактора који могу утицати на вредности фекалног калпротектина у неонаталном добу, као и прецизним утврђивањем граничних вредности овог маркера у субпопулацији превремено рођене и терминске новорођенчади, без оболења гастроинтестиналног тракта.

Предлог ментора

За ментора ове докторске дисертације се предлаже доц. др Александра Симовић, доцент Факултета медицинских наука Универзијета у Крагујевцу за ужу научну област Педијатрија.

Доц др Александра Симовић поседује стручне и научне компетенције које су комплементарне са предметом истраживања и испуњава услове за ментора докторских дисертација у складу са стандардом 9, за акредитацију студијских програма докторских академских студија на високошколским установама.

1.1. Компетентност ментора:

1. Savić D, Simović A, Marković S, Kostić G, Vuletić B, Radivojević S, Lišanin M, Igrutinović Z, Pavlović R. The Role of Presepsin Obtained from Tracheal Aspirates in the Diagnosis of Early Onset Pneumonia in Intubated Newborns. Indian J Pediatr 2018; doi: 10.1007/s12098-018-2676-2.
2. Simović AM, Stojković AK, Jeremić D, Savić D. Is it Possible to Predict Mortality in Preterm Neonates, Based on a Single Troponin I Value at 24 h? Indian J Pediatr 2016;83(5):466-7.
3. Stojković A, Simović A, Bogdanović Z, Banković D, Poskurica M. Clinical trial/experimental study (consort compliant): Optimal time period to achieve the effects on synbiotic-controlled wheezing and respiratory infections in young children. Srpski Arh Celok Lek 2016;144(1-2):38-45.
4. Simović A, Stojković A, Savić D, Milovanović DR. Can a single lactate value predict adverse outcome in critically ill newborn? Bratislavské Lek Listy 2015;116(10):591-5.
5. Simović A, Prijić S, Knežević J, Igrutinović Z, Vujić A, Košutić J. Predictive value of biochemical, echocardiographic and electrocardiographic markers in non-surviving and surviving asphyxiated full-term newborns. Turk J Pediatr 2014;56(3):243-249.
6. Simović AM, Košutić JLj, Prijić SM, Knežević JB, Vujić AJ, Stojanović ND. The role of biochemical markers as early indicators of cardiac damage and prognostic parameters of perinatal asphyxia. Vojnosanit Pregled 2014; 71(2): 149–155.
7. Simović AM, Igrutinović Z, Obradović S, Ristić D, Vuletić B, Radovanović M. The Significance of Second Generation Cardiac Troponin I in Early Screening of Hypoxic-Ischemic Encephalopathy after Perinatal Asphyxia. Srpski Arh Celok Lek 2012; 140(9-10):600-605.
8. Knežević S, Stojanović N, Oros A, Savić D, Simović A, Knežević J. Analysis of risk factors in the development of retinopathy of prematurity. Srpski Arh Celok Lek 2011; 139 (7-8):433-438

9. Simović A, Knežević J, Igrutinović Z, Stojanović N, Kocić S. Cardiac troponin as biochemical marker of perinatal asphyxia and hypoxic myocardial injury. Vojnosanit Pregl 2009; 66(11): 881-886.
10. Simović A, Stojković A. Correlation Level of Cardiac Troponin-I with Total Duration of Oxygen/ Ventilator Therapy in the Term New-borns with Respiratory Distress. J Cardiovas Dis Diagn 2014; 2:172. doi:10.4172/2329-9517.1000172

4. Научна област дисертације

Медицина. Изборно подручје: Хумана репродукција и развој

5. Научна област чланова комисије

1. Проф. др Биљана Вулетић, редовни професор Факултета медицинских наука Универзитета у Крагујевцу за ужу научну област Педијатрија, председник;
2. Проф. Зоран Игрутиновић, ванредни професор Факултета медицинских наука Универзитета у Крагујевцу за ужу научну област Педијатрија, члан;
3. Проф. др Милош Јешић, ванредни професор Медицинског факултета Универзитета у Београду за ужу научну област Педијатрија-неонатологија, члан.

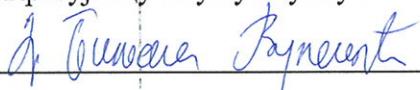
ЗАКЉУЧАК И ПРЕДЛОГ КОМИСИЈЕ

На основу досадашњег научно-истраживачког рада кандидат, **Јелена Џековић**, испуњава све услове за одобрење теме и израду докторске дисертације. Предложена тема је научно оправдана и оригинална, дизајн истраживања прецизно постављен и дефинисан, а научна методологија јасна и прецизна.

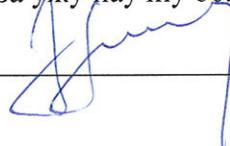
Комисија предлаже Научно-наставном већу Факултета медицинских наука Универзитета у Крагујевцу да прихвати тему докторске дисертације кандидата **Јелена Џековић**, под називом „Клинички значај одређивања концентрације фекалног калпротектина код превремено рођене деце“ и одобри њену израду.

ЧЛАНОВИ КОМИСИЈЕ

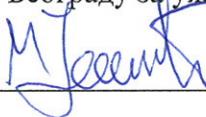
Проф. др **Биљана Вулетић**, редовни професор Факултета медицинских наука Универзитета у Крагујевцу за ужу научну област Педијатрија, председник



Проф. Зоран Игрутиновић, ванредни професор Факултета медицинских наука Универзитета у Крагујевцу за ужу научну област Педијатрија, члан



Проф. др **Милош Јешић**, ванредни професор Медицинског факултета Универзитета у Београду за ужу научну област Педијатрија-неонатологија, члан



У Крагујевцу, 28.07.2020. године