

ИЗВЕШТАЈ О ОЦЕНИ НАУЧНЕ ЗАСНОВАНОСТИ
ТЕМЕ ДОКТОРСКЕ ДИСЕРТАЦИЈЕ

1. Одлука Већа за медицинске науке Универзитета у Крагујевцу

Одлуком Већа за медицинске науке Универзитета у Крагујевцу број IV-03-175/24 од 10.03.2021. именовани су чланови комисије за оцену научне заснованости теме и испуњености услова кандидата Марије Бићанин Илић за израду докторске дисертације под називом „Поспартално испитивање утицаја COVID 19 на постелично ткиво код пацијенткиња инфицираних током трудноће“.

Чланови су:

1. Проф. др Мирјана Варјачић, редовни професор Факултета медицинских наука Универзитета у Крагујевцу за ужу научну област Гинекологија и акушерство, председник
2. Доц. др Јована Јоксимовић Јовић, доцент Факултета медицинских наука Универзитета у Крагујевцу за ужу научну област Физиологија, члан
3. Проф. др Ана Митровић Јовановић, редовни професор Медицинског факултета Универзитета у Београду за ужу научну област Гинекологија и акушерство, члан

2. Извештај комисије о оцени научне заснованости теме докторске дисертације

2.1. Кратка биографија кандидата

Др Марија Бићанин Илић рођена је 19.03.1981. у Прокупљу. Основну школу и Гимназију завршила је одличним успехом, као носилац дипломе „Вук С. Караџић“. Медицински факултет Универзитета у Нишу уписала је 2000. год, а дипломирала 2007. са просеком 8.84. и одбрањеним дипломским радом „Хабитуални побачаји“ са оценом 10.

Од 2009. год запослена је на Клиници за Гинекологију и акушерство Клиничког центра у Крагујевцу, најпре као клинички лекар, а од 2018. год након завршених специјалистичких студија одличном оценом, као лекар специјалиста гинекологије и акушерства. Од

21.01.2020. год изабрана је на Факултету медицинских наука Универзитета у Крагујевцу у звање асистента за ужу научну област Гинекологија и акушерство. Студент је треће године Докторских академских студија, смера „Хумана репродукција и развој“, усмени докторски испит положила је 2010. год оценом 10.

Учесник је многобројних домаћих и страних научних скупова. Од 2019. едукатор је УНИЦЕФ-овог програма КМЕ „Подршка дојењу“. Члан је Лекарске коморе и Српског лекарског сруштва. Познаје рад на рачунару, говори енглески и руски језик.

2.2. Наслов, предмет и хипотеза докторске дисертације

Наслов: „Поспартално испитивање утицаја COVID 19 на постелично ткиво код пацијенткиња инфицираних током трудноће“

Предмет:

1. Утврдити типове и учесталост патохистолошких промена постеличног ткива код пацијенткиња код којих је у трудноћи потврђена инфекција SARS COV 2 и упоредити их са контролном групом
 2. Утврдити присуство (ACE2) рецептора на ћелијама синциотрофобласта имунохистохемијским методама.
 3. Утврдити присуство SARS COV 2 унутар постеличног ткива, у назофарингеалном брису новорођенчета путем RT-PCR методе као и присуство IgM At у крви новорођенчета ради доказивања могућности вертикалне трансмисије на плод.
 4. Утврдити у венској крви мајке и крви из пупчаника ниво малонилалдехида (MDA), ксантин оксидазе (XO), као и ниво 8-хидрокси-2'-деоксигуанозина (8-OHdG), SOD, GSH-Px, биомаркера оксидативног стреса и измењеног редокс потенцијала код оболелих трудница.
- Утврдити неонатални исход: Апгар скор, телесну тежину новорођенчета, пријем на одељење интензивне неге, резултат SARS COV 2 теста, дужину боравка на одељењу неонатологије

Хипотезе:

1. Постоји статистички значајна разлика у учесталости патохистолошких промена постеличног ткива код пацијенткиња код којих је потврђена SARS COV 2 инфекција у односу на контролну групу
2. Могућа је вертикална трансмисија SARS COV 2 са мајке на плод
3. Постоји статистички значајан повишен ниво биомаркера оксидативног стреса у крви мајке и пупчаника.
4. Постоји статистички значајна разлика у неонаталном исходу новорођенчади мајки оболелих од COVID 19 у односу на контролну групу.

2.3. Испуњеност услова за пријаву теме докторске дисертације

Кандидат има објављен рад у целини као први аутор у часопису категорије M51 на једном од водећих светских језика, чиме има испуњен услов за пријаву докторске дисертације.

Bicanin Ilic M, Dimitrijevic A. The incidence of adolescent pregnancy at clinic of gynecology and obstetrics of Clinical center Kragujevac. *Serb J Exp Clin Res.* 2019; doi: 10.2478/sjecr-2019-0028. **M51**

2.4. Преглед стања у подручју истраживања

SARS-CoV-2 доводи до инфламаторних, коагулационих и ендотелних поремећаја. Поред пнеумоније која представља озбиљну претњу, поремећај коагулације је додатни фактор ризика за развој компликација у трудноћи. Примарна мета SARS-CoV2 су епителне ћелије које поседују *angiotension-converting enzyme 2 (ACE2)* рецептор. Постељица као имунопривилегован орган са измењеним имуним одговором је мета вирусних инфекција.

Хистопатолошке промене унутар постеличног ткива сврставају се према амстердамском консензусу за патологију постељице. Промене типа FMV у вези су са смањеном масом постељице, интраутериним застојем у расту плода и мртворођеношћу.

Оксидативни стрес и последични инфламаторни одговор, „цитокинска олуја“ су умешани у патогенезу COVID-19. Оштећења која производи оксидативни стрес потичу од мембранозних липида, протеина и митохондријалне ДНК..

2.5. Значај и циљ истраживања

Истраживање патолошких промена унутар постељице и перинаталног исхода има важан допринос у креирању водича и препорука за лечење оболелих трудница. Циљ овог истраживања је доказивање вертикална трансмисија SARS-CoV-2 на плод, као и последице на фетални раст и развој, Праћење редокс потенцијала у трудноћи могло би омогућити прогнозу болести. Превенција плацентног оксидативног стреса је важна како би се осигурао позитивни перинатални исход.

2.6. Веза истраживања са досадашњим истраживањима

Постоје индикације да инфекција током трудноће може довести до повећаног ризика за здравље труднице и новорођенчета. Хемостатске промене и висок ниво тромбоеболијских компликација забележени су код пацијената оболелих од COVID 19. Подаци досадашњих студије су контрадикторни, те поједине показују значајано већи број патохистолошких промена унутар постељице сврстаних као MVM (Maternal vascular malperfusion), друге пак значајнији проценат промена по типу FMV (fetal vascular malperfusion), док поједине бележе инфламаторне лезије попут хроничног хистиоцитног вилитиса, вилитиса, фунизитиса и хориоамнионитиса. ACE2 рецептор се налази у кардиоваскуларном систему, ткиву црева, масном ткиву, плућима, бубрезима и другим ткивима. Присуство ових рецептора на хуманим ендометријалним ћелијама је дискутабилно и тема је актуелних студија. Ограничен број студија показао је могућност вертикалне трансмисије са мајке на плод користећи RT-PCR детекцију вируса у назофариенгеалном брису новорођенчета, *in situ* хибридизацију у постељници, имунихистохемијске метода детекције вирусних протеина и присуство IgM класе антитела код новорођенчета.

2.7. Методе истраживања

2.7.1 Врста студије Истраживање је осмишљено као ретроспективно-проспективна клиничка кохортна студија

2.7.2. Популација која се истражује

Планирана студија обухватила би популацију трудница које су се породиле од 24. до 42. недеље гестације на ГАКу КЦ Крагујевац , старости од 18 до 43 год, са подручја Шумадијског округа, праћених у периоду од дијагностиковања позитивног SARS COV2 теста до отпуста са акушерског одељења након порођаја и отпуста новорођенчета са одељења неонатологије.

2.7.3. Узорковање:

Код трудница које се примају на акушерско одељење ради порођаја најпре би био узет назофарингеални брис ради брзог антигенског тетста/PCR теста на присуство SARS COV2. Након порођаја извршило би се прикупљање узорака и то: крви мајке за испитивање биомаркера оксидативног стреса (у контролној групи и присуства IgG и IgM антитела), крв из пупчаника након порођаја, постеличног ткива, (пресек који би обухватао целу дебљину постелице заједно са овојцима и један пресек пупчаника за патохистолошку анализу, фиксирана најпре, 48ч у раствору формалина како би се елиминисала инфективност материјала), крв новорођенчета ради испитивања присуства IgM антитела, назофарингеални брис новорођенчета (код групе испитаница које имају доказано присуство SARS COV2 унутар 14 дана који су претходили порођају)

2.7.4. Варијабле које се мере у студији

Независне варијабле: Позитиван RT-PCR и/или брзи антигенски тест назофарингеалног бриса на SARS COV2

Зависне варијабле:

1. Патохистолошке промене дефинисане према амстердамском консензусу за патологију постелице, MVM, FVM и инфламаторног порекла (хистиоцитног вилитиса, вилитиса, фунизитиса и хориоамнионитиса),
2. Макроскопски изглед постелице и пупчаника, присуство меконијалних мрља, маса постелице, однос масе постелице и телесне масе новорођенчета
3. Имунохистохемијски налаз ACE2 рецептора и Spike SARS COV2 на површини синциотиотрофобласта, као и CD68 на присуство макрофага.

4. RT-PCR на присуство SARS COV2 у ћелијама постељице (у групи испитаница, са актуелним присуством вируса током порођаја).
5. Ниво малонилалдехида (MDA), ксантин оксидазе (ХО), као и ниво 8-хидрокси-2'-деоксигуанозина (8-OHdG), SOD, GSH-Px у венској крви мајке и крви из пупчаника
6. Серолошки налаз IgM SARS COV2 антитела у венској крви новорођенчета (ELISA методом)
7. RT-PCR на присуство SARS COV2 у ћелијама назофарингеалног бриса новорођенчета (у подгрупи мајки код којих је утврђено присуство SARS COV2 унутар 14 дана који су претходили порођају)
8. Апгар скор новорођенчета (прво и пето-минутни), телесна маса на рођењу, трајање гестације (у недељама), дужина хоспитализације на неонатолошком одељењу (у данима), пријем на интензивно одељење неонатологије

Збуњујуће варијабле:

1. Обољења у трудноћи: хипертензија, преклампсија, тромбофилије, гестацијски дијабетес
2. Пушење у трудноћи
3. Могућност интрапарталне трансмисије вируса са мајке на плод
4. Асимптоматске пацијенткиње оболеле заражене вирусом SARS COV2

2.7.5. Снага студије и величина узорка

Прорачун студијског узорка је сачињен на основу података публиковане литературе о учесталости феталне васкуларне малперфузије (FVM) у постељицама трудница које су имале COVID-19 у односу на контролну групу здравих трудница. Учесталост FVM код оболелих трудница је била од 6.7-48.3% док је код здравих трудница она била од 8-11.3%. На основу претпостављене учесталости и очекиване њене разлике између студијских група за вредности алфа грешке од 0.05, снаге студије 0.8 и односа 1:1 испитаница између група, коришћењем одговарајућег рачунарског програма, за Фишеров егзактни тест дихотомног обележја независних група, израчунат је узорак од 19 испитаница за сваку студијску групу, односно укупно најмање 38 испитаница

1. Shanes ED, Mithal LB, Otero S, Azad HA, Miller ES, Goldstein JA. *Placental Pathology in COVID-19. American journal of clinical pathology* 2020;154; 23-32.

2. Megan C et al. *A structured review of placental morphology and histopathological lesions associated with SARS-CoV-2 infection, Placenta* 2020;101;13-29

2.7.6. Статистичка анализа

У статистичкој обради података планирани су параметри дескриптивне статистике: фреквенције, проценти, средња вредност, медијана, стандардна девијација (SD) и распон. Статистичка значајност нумеричких варијабли ће бити одређена Студент-овим Т тестом или Mann-Whitney тестом у зависности од типа расподеле података. Значајност разлика учесталости обележја посматрања ће бити анализирана Фишеровим егзактним тестом. Други статистички тестови (нпр. корелација) биће коришћени сходно резултатима основне, експлоративне анализе. Коришћењем униваријабилне и мултиваријабилне линеарне одн. логистичке регресије испитаће се утицај испитиваних независних и збуњујућих варијабли на нумеричке одн. бинарне (дихотомне) студијске исходе. Статистичка значајност вероватноћа испитиваних разлика у вредностима варијабли између студијских група биће претпостављена за $p < 0.05$. Сви статистички прорачуни биће изведени употребом стандардног програмског пакета SPSS v 20.0 или новији.

2.8. Очекивани резултати докторске дисертације

Очекује се да ће резултат ове студија показати да постоји статистички значајна разлика заступљености патохистолошких променама постеличног ткива код пацијенткиња оболелих од COVID 19 у трудноћи, што би заједно са очекиваним резултатима повишеног оксидационог стреса мајке и новорођенчета сврстало ове трудноће у групу виокоризичних, те указало на потребу интензивног праћења трудноће, планирања термина и начина завршавања трудноће, континуираног интрапарталног надзора од стране гинеколога и доступност интензивне неонатолошке службе непосредно по рађању, и потребу за неонатолошким надзором током периода хоспитализације новорођенчета.

Резултати евентуалне вертикалне трансмисије на плод допринели би креирању протокола о начину праћења трудноће у односу на триместар у коме се догодила инфекција, о

термину и начину завршавања трудноће, потреби за изолацијом мајке и новорођенчета, неодложно доступним интензивним неонатолошким надзором, омогућавању контакта кожа на кожу, смерница за безбедно дојење.

2.9. Оквирни садржај дисертације

Овим истраживањем добићемо информације о учесталости патохистолошких промена унутар постеличног ткива, као и о нивоу оксидативног стреса код пацијенткиња и новорођенчади које су током трудноће заражене вирусом SARS COV 2 (експериментална група) и трудница код којих није детектовано присуство вируса током трудноће (контролна група). На основу резултата овог испитивања добићемо информације о вероватноћи вертикалне трансмисије вируса SARS COV 2 са мајке на плод током трудноће (на основу присуства антитела IgM класе на SARS COV 2, као и налаза PCR теста новорођенчади тестираних у првом дану живота).

3. Предлог ментора

Комисија предлаже за ментора докторске дисертације „Поспартално испитивање утицаја COVID 19 на постелично ткиво код пацијенткиња инфицираних током трудноће“ професора Александру Димитријевић, ванредног професора Факултета медицинских наука Универзитета у Крагујевцу, за ужу научну област гинекологија и акушерство. Предложени наставник испуњава услов за ментора докторске дисертације у складу са стандардом 9 за акредитацију студијских програма докторских академских студија на високошколским установама.

3.1. Компетентност ментора

Радови проф. др Александре Димитријевић који се баве хуманом репродукцијом, перинатологијом и патологијом трудноће:

1. Protrka ZM, Arsenijevic PS, Jovic N, Zivanovic S, Djuric JM, Dimitrijevic AB. A case of uterine torsion in term pregnancy associated with placental abruption and intrauterine fetal demise. Clin Exp Obstet Gyn. 2018; 45(2):287-289.

2. Sobic GM, Jovic ND, Rakic BM, Dimitrijevic AB, Varjadic MR. Association Between Inherited Thrombophilia in Pregnancy and Micronucleus Frequency in Peripheral Blood Lymphocytes. *Balkan J Med Genet.* 2017;20(2):11-18.
3. Djurić J, Arsenijević S, Banković D, Protrka Z, Sorak M, Dimitrijević A, Tanasković I. Dystocia as a cause of untimely cesarean section. *Vojnosanit Pregl.* 2012;69(7):589-93.
4. Z. Protrka, A. Dimitrijevic, T. Kastratovic, J. Djuric, P. Arsenijevic, T. Novakovic, MZ. Milosavljevic. Prenatally diagnosed omphalocele at 11 weeks gestation – a case report. *Central European Journal of Medicine* 2013; 8(4):431-433
5. J. Đurić, S. Arsenijević, D. Banković, Z. Protrka, M. Šorak, A. Dimitrijević, A. Živanović. Karlična prezentacija u terminu: carski rez ili vaginalni porođaj? *Srp Arh Celok Lek* 2011;139(3-4):155-160.

4. Научна област дисертације

Медицина. Изборно подручје - Хумана репродукција и развој

5. Научна област чланова комисије

1. **Проф. др Мирјана Варјачић**, редовни професор Факултета медицинских наука Универзитета у Крагујевцу за ужу научну област Гинекологија и акушерство, председник;
2. **Доц. др Јована Јоксимовић Јовић**, доцент Факултета медицинских наука Универзитета у Крагујевцу за ужу научну област Физиологија, члан;
3. **Проф. др Ана Митровић Јовановић**, редовни професор Медицинског факултета Универзитета у Београду за ужу научну област Гинекологија и акушерство, члан.

ЗАКЉУЧАК И ПРЕДЛОГ КОМИСИЈЕ

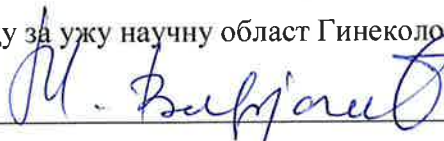
На основу увида у резултате досадашње научно-истраживачке активности и публиковане радове, Комисија закључује да кандидат др Марија Бићанин Илић испуњава све услове прописане Статутом факултета и законом о Универзитету за одобрење теме и израду докторске дисертације.

Комисија је утврдила да се ради о оригиналном научном делу које има за циљ да испита учесталост патохистолошких промена унутар постеличног ткива код пацијенткиња које су током трудноће оболеле од COVID 19. Предложена тема је научно оправдана, дизајн истраживања је прецизно постављен и дефинисан, а методологија је јасна.

Комисија предлаже наставно-научном већу Факултета медицинских наука Универзитета у Крагујевцу да прихвати тему докторске дисертације кандидата др Марије Бићанин Илић „Поспартално испитивање утицаја COVID 19 на постелично ткиво код пацијенткиња инфицираних током трудноће“ и одобри њену израду.

ЧЛАНОВИ КОМИСИЈЕ

Проф. др Мирјана Варјачић, редовни професор Факултета медицинских наука Универзитета у Крагујевцу за ужу научну област Гинекологија и акушерство, председник



Доц. др Јована Јоксимовић Јовић, доцент Факултета медицинских наука Универзитета у

Крагујевцу за ужу научну област Физиологија, члан



Проф. др Ана Митровић Јовановић, редовни професор Медицинског факултета Универзитета у Београду за ужу научну област Гинекологија и акушерство, члан



У Крагујевцу, март 2021.