

NAUČNOM VEĆU MEDICINSKOG FAKULTETA
UNIVERZITETA U BEOGRADU

Na sednici Naučnog veća Medicinskog fakulteta u Beogradu, održanoj dana 24.12. 2015. godine, broj 4940/2 imenovana je komisija za ocenu završene doktorske disertacije pod naslovom:

„Značaj ranog predviđanja akutnog oštećenja bubrega kod bolesnika sa sepsom posle hirurških intervencija”

kandidata dr Suzane Bojić, zaposlene u Kliničko bolničkom centru Bežanijska kosa u Beogradu, kao lekar specijalista anesteziologije sa reanimatologijom. Mentor je Prof. dr Sanja Simić-Ogrizović a komentor Prof. dr Nevena Kalezić.

Komisija za ocenu završene doktorske disertacije imenovana je u sastavu:

1. Prof.dr Višnja Ležaić, redovni profesor Medicinskog fakulteta Univerziteta u Beogradu
2. Prof. dr Nada Popović, redovni profesor Medicinskog fakulteta Univerziteta u Beogradu
3. Doc. dr Zorica Dimitrijević, docent Medicinskog fakulteta Univerziteta u Nišu.

Na osnovu analize priložene doktorske disertacije, komisija za ocenu završene doktorske disertacije jednoglasno podnosi Naučnom veću Medicinskog fakulteta sledeći

IZVEŠTAJ

A) Prikaz sadržaja doktorske disertacije

Doktorska disertacija dr Suzane Bojić napisana je na 144 strane i podeljena je u sledeća poglavlja: uvod, ciljevi istraživanja, materijali i metode, rezultati, diskusija, zaključci i literatura. U disertaciji se nalazi ukupno 15 grafikona i 29 tabela. Doktorska disertacija sadrži i sažetak na srpskom i engleskom jeziku, podatke o komisiji, biografiju autora, izjavu o

autorstvu, izjavu o istovetnosti štampane i elektronske verzije doktorskog rada i izjavu o korišćenju.

U **uvodu** je definisan pojam i klasifikacija akutnog oštećenja bubrega (AOB), faktori rizika za nastanak ovog stanja kao i načini prevencije i metode lečenja sa naglaskom na tehnike zamene bubrežne funkcije (TZBF). Posebno poglavlje je posvećeno AOB u sepsi (S-AOB) sa detaljnim prikazom najsavremenijih shvatanja etiopatogeneze ovog posebnog kliničkog entiteta. Istaknut je i značaj AOB kod hirurških bolesnika.

Naročit je istaknut značaj upotrebe novih biomarkera u ranom otkrivanju i predviđanju nastanka S-AOB sa posebnim osvrtom na nedostatke trenutno korišćenih kriterijuma za dijagnozu AOB u populaciji kritično obolelih i septičnih bolesnika. Opisana je hemijska struktura, biološka uloga kao i dijagnostički i prognostički značaj najpoznatijih i najčešće korišćenih novih biomarkera bubrežnog oštećenja Neutrophil Gelatinase Associated Lipocalin (NGAL) i Kidney Injury Molecule-1 (KIM-1). Ukazano je i na značaj inflamacije u patogenezi S-AOB i prikazani su najaktuelniji biomarkeri inflamacije od kojih C-reaktivni protein (CRP) i prokalcitonin (PCT) stižu sve veći značaj u kliničkoj primeni dok matriks metaloproteinaza-9 (MMP-9) i tkivni inhibitor matriks metaloproteinaze-1 (TIMP-1) trenutno zauzimaju centralno mesto u istraživanjima inflamatornih bolesti. Prikazano je i savremeno shvatanje uzročno-posledične interakcije oksidativnog stresa i S-AOB sa opisom novih biomarkera oksidativnog stresa: totalnog oksidativnog statusa (TOS), totalnog antioksidativnog statusa (TAS), indeksa oksidativnog stresa (OSI), prooksidativnog-antioksidativnog balansa (PAB), paraoksonaze-1 (PON-1) kao i malondialdehida (MDA).

Ciljevi istraživanja su precizno definisani. U njih spadaju: 1. određivanje vrednosti novih biomarkera bubrežnog oštećenja, inflamacije i oksidativnog stresa kod obolelih od sepse i kontrolnih grupa; 2. ispitivanje razlike u vrednostima novih biomarkera bubrežnog oštećenja, inflamacije i oksidativnog stresa između obolelih od sepse i kontrolnih grupa kao i između septičnih bolesnika sa i bez S-AOB; 3. ispitivanje povezanosti između vrednosti novih biomarkera bubrežnog oštećenja, inflamacije i oksidativnog stresa i standardnih biomarkera bubrežne funkcije i 4. ispitivanje novih biomarkera bubrežnog oštećenja, inflamacije i

oksidativnog stresa kao dijagnostičkih, prediktivnih i prognostičkih biomarkera sepse i S-AOB.

U poglavlju **Materijal i metode** navedeno je da je studija rađena u hirurškoj Jedinici intenzivnog lečenja i Klinici za hirurgiju Kliničko bolničkog centra Bežanijska kosa tokom 2012. i 2013. god. Istraživanje je odobreno od strane Etičkih komiteta Kliničko bolničkog centra Bežanijska kosa i Kliničkog Centra Srbije.

Opisan je dizajn studije i precizno definisane tri grupe bolesnika, grupa obolelih od sepse, kontrolna grupa operisanih i kontrolna grupa neoperisanih bolesnika, sa jasnim kriterijumima za uključivanje i isključivanje bolesnika iz studije. Detaljno je opisana klinička procena bolesnika sa akcentom na postavljanje dijagnoze sepse i S-AOB kako i računanjem skorova težine bolesti Acute Physiology and Chronic Health Evaluation II (APACHE II) i Sequential Organ Failure Assessment (SOFA). Svi relevantni klinički pojmovi jasno su definisani. Opisan je način i dinamika uzimanja uzoraka krvi i urina kao i način obrade i čuvanja uzoraka. Detaljno je opisana metodologija određivanja koncentracije novih biomarkera bubrežnog oštećenja (NGAL i KIM-1), inflamacije (CRP, PCT, MMP-9, TIMP-1, MMP-9:TIMP-1 kompleks, MMP-9/TIMP-1 odnos) i oksidativnog stresa (PON-1, TOS, TAS, OSI, PAB, MDA) kao i standardnih biomarkera bubrežne funkcije (serumskog kreatinina i uree) iz prikupljenih uzoraka.

U poglavlju **Rezultati** detaljno su opisani i jasno predstavljeni svi dobijeni rezultati.

Diskusija je napisana jasno i pregledno, uz prikaz podataka drugih istraživanja sa uporednim pregledom dobijenih rezultata doktorske disertacije.

Zaključci sažeto prikazuju najvažnije nalaze koji su proistekli iz rezultata rada.

Korišćena **literatura** sadrži spisak od 139 referenci.

B) Kratak opis postignutih rezultata

Ovo istraživanje je pokazalo da su oboleli od sepse imali značajno više vrednosti serumskog i urinarnog NGAL, urinarnog KIM-1, TIMP-1 i PAB, a niže MMP-9, MMP-9/TIMP-1 odnosa, PON-1, TAS, TOS i OSI u poređenju sa bolesnicima kontrolnih grupa, dok se vrednosti MMP-9:TIMP-1 kompleksa nisu razlikovale između ovih grupa bolesnika.

Zapaženo je da su septični bolesnici sa S-AOB imali značajno više vrednosti serumskog i urinarnog NGAL, urinarnog KIM-1 i TIMP-1 a niže MMP-9, MMP-9/TIMP-1 odnosa, PON-1, TOS, OSI i PAB u poređenju sa septičnim bolesnicima bez S-AOB ali se septični bolesnici sa i bez S-AOB nisu razlikovali po vrednostima MMP-9:TIMP-1 kompleksa, TAS i MDA.

Rezultati su pokazali da su standardni biomarkeri bubrežne funkcije, serumski urea i kreatinin, pozitivno korelirali sa serumskim i urinarnim NGAL, urinarnim KIM-1 kao i TIMP-1, a negativno sa MMP-9, MMP-9/TIMP-1 odnosom, PON-1, TOS i OSI, dok korelacija sa MMP-9:TIMP-1 kompleksom, TAS, PAB i MDA nije dostigla statističku značajnost.

Evaluacija dijagnostičke vrednosti ispitivanih biomarkera je pokazala da serumski i urinarni NGAL, urinarni KIM-1, TIMP-1, MMP-9/TIMP-1 odnos, PON-1, TAS, TOS, OSI i PAB su, samostalno ili u kombinaciji, za razliku od MMP-9 i MMP-9:TIMP-1 kompleksa, bili dobri dijagnostički biomarkeri sepse.

Slično, serumski i urinarni NGAL, urinarni KIM-1, TIMP-1, MMP-9/TIMP-1 odnos, PON-1, TOS, OSI i PAB su, samostalno ili u kombinaciji, za razliku od MMP-9, MMP-9:TIMP-1 kompleksa i TAS bili dobri dijagnostički biomarkeri S-AOB.

Jedini nezavisni prediktori nastanka S-AOB su bili MMP-9:TIMP-1 kompleks i PON-1, dok su samo kombinacije ostalih ispitivanih novih biomarkera bubrežnog oštećenja, inflamacije i oksidativnog stresa ali ne i oni samostalno, mogli da predvide nastanak S-AOB.

Rezultati su pokazali da su serumski i urinarni NGAL, urinarni KIM-1, MMP-9, TIMP-1, MMP-9:TIMP-1 kompleks, MMP-9/TIMP-1 odnos, PON-1, TOS i OSI, za razliku od TAS i PAB, bili dobri prognostički biomarkeri preživljavanja sepse.

C) Uporedna analiza doktorske disertacije sa rezultatima iz literature

Povišene vrednosti novih biomarkera bubrežnog oštećenja koje su nađene kod obolelih od sepse se najvećim delom mogu objasniti pojavom S-AOB u ovoj grupi bolesnika a manjim delom samom inflamacijom u sepsi ili usled hirurške intervencije (Oto i sar., 2015), što je saglasno sa dosadašnjom nalazima Dai i sar. (2015). Rezultati ovog istraživanja koji su ukazali da velike abdominalne hirurške intervencije značajno snižavaju vrednosti MMP-9 dok sepsa uzrokuje porast vrednosti MMP-9 su kontradiktorne sa nalazima ranijih studija u kojima velike neabdominalne hirurške intervencije (Lindholm i sar., 2015, Helmersson-Karlkvist, 2012) uzrokuju porast vrednosti MMP-9. Slične studije u velikoj abdominalnoj hirurgiji nisu izvedene do danas. O vrednostima MMP-9 u sepsi postoje kontradiktorni nalazi u literaturi (Lauhio i sar., 2011, Mul i sar., 2011, Martin i sar., 2014) ali ni jedna od ovih studija nije bila izvedena na hirurškim bolesnicima. Više studija (Li i sar, 2013, Novak i sar, 2010) je potvrdilo nalaz ove studije u kojoj je aktivnost PON-1 u sepsi smanjena ali su kohorte septičnih bolesnika bile vrlo heterogenog sastava i poređene su sa zdravim kontrolama.

Septični bolesnici sa S-AOB su imali niže vrednosti MMP-9 u odnosu na septične bolesnike bez S-AOB što je neočekivano u poređenju sa rezultatima studija na životinjskim modelima AOB (Maitra i sar. 2010) i studije Han i sar. (2008) kao i očekivano niže vrednosti TIMP-1 (Vang i sar., 2014). Novi biomarkeri oksidativnog stresa PON-1, TOS, TAS, OSI i PAB do sada nisu ispitivani u AOB bilo koje etiologije.

U skladu sa rezultatima prethodnih studija, nađena je pozitivna korelacija između vrednosti NGAL i KIM-1 (Endre i sar., 2011), serumskog i urinarnog NGAL (Vanmasenhove i sar., 2015) kao i značajna korelacija NGAL i KIM-1 sa standardnim biomarkerima bubrežne funkcije (Oto i sar., 2015). Saglasno sa nalazima drugih istraživača nađena je pozitivna korelacija između vrednosti novih biomarkera bubrežnog oštećenja, skorova težine bolesti, biomarkera inflamacije i oksidativnog stresa (Vanmasenhove i sar., 2015).

U za sada dostupnoj literaturi, novi biomarkeri bubrežnog oštećenja, inflamacije i oksidativnog stresa nisu bili evaluirani kao dijagnostički biomarkeri sepse. Prema prikazanim

rezultatima, oni su se pokazali kao odlični dijagnostički biomarkeri sepse ali se njihova dijagnostička vrednost značajno smanjuje kada se iz grupe septičnih bolesnika izuzmu oni kod kojih se razvilo S-AOB. U studiji Martina i sar. (2014) MMP-9 ali ne TIMP-1 se pokazao kao dobar dijagnostički biomarker sepse ali je studija poredila septične bolesnike sa drugim neinficiranim kritično obolelim pacijentima.

Do sada nije publikovana ni jedna studija o NGAL i KIM-1 kao dijagnostičkim biomarkerima S-AOB kod septičnih bolesnika koji su imali veliku abdominalnu hiruršku intervenciju. Međutim, slično rezultatima prethodnih studija (Tu i sar., 2014, Dai i sar., 2015), i u ovoj studiji su se NGAL i KIM-1 pokazali kao dobri dijagnostički biomarkeri S-AOB. Ova studija je prva evaluirala MMP-9 i TIMP-1 kao dijagnostičke biomarkere S-AOB kod hirurških bolesnika sa sepsom. Biomarkeri oksidativnog stresa do sada nisu evaluirani kao dijagnostički biomarkeri AOB bilo koje etiologije.

U ovoj studiji, serumski i urinarni NGAL kao ni KIM-1 pojedinačno nisu bili dobri prediktori nastanka S-AOB suprotno nalazima Dai i sar. (2015). Do sada nisu publikovana istraživanja o značaju MMP-9 i TIMP-1 i biomarkera oksidativnog stresa u ranoj predikciji nastanka AOB bilo koje etiologije.

Slično rezultatima ove studije, novi biomarkeri bubrežnog oštećenja (Vang i sar., 2014), inflamacije (Martin i sar., 2014) i oksidativnog stresa (Bojić i sar., 2014) su bili dobri prediktori dvadesetosmodnevnog preživljavanja septičnih bolesnika.

D) Objavljeni radovi koji čine deo doktorske disertacije

1. Bojic S, Kotur-Stevuljevic J, Kalezic N, Stevanovic P, Jelic-Ivanovic Z, Bilanovic D, Memon L, Damjanovic M, Kalaba Z, Simic-Ogrizovic S: Diagnostic Value of Matrix Metalloproteinase-9 and Tissue Inhibitor of Matrix Metalloproteinase-1 in Sepsis-Associated Acute Kidney Injury The Tohoku journal of experimental medicine 2015, 237(2): 103-9.

E) Zaključak (obrazloženje naučnog doprinosa)

Doktorska disertacija „**Značaj ranog predviđanja akutnog oštećenja bubrega kod bolesnika sa sepsom posle hirurških intervencija** ” dr Suzane Bojić predstavlja originalni naučni doprinos u razumevanju značaja novih biomarkera bubrežnog oštećenja, inflamacije i oksidativnog stresa u ranoj predikciji ali i dijagnostici S-AOB. Ovim istraživanjem rasvetljen je i njihov značaj kao dijagnostičkih, prognostičkih i prediktivnih biomarkera S-AOB i sepse. Navedeni rezultati ove doktorske teze bi mogli da pomognu u razumevanju ranog patofiziološkog substrata ču praktičnu primenu ispitivanih biomarkera u svakodnevnom kliničkom radu.

Ova doktorska disertacija je urađena prema svim principima naučnog istraživanja. Ciljevi su bili precizno definisani, naučni pristup je bio originalan i pažljivo izabran, a metodologija rada je bila savremena. Rezultati su pregledno i sistematično prikazani i diskutovani, a iz njih su izvedeni odgovarajući zaključci.

Na osnovu svega navedenog, i imajući u vidu dosadašnji naučni rad kandidata, komisija predlaže Naučnom veću Medicinskog fakulteta Univerziteta u Beogradu da prihvati doktorsku disertaciju dr Suzane Bojić i odobri njenu javnu odbranu radi sticanja akademske titule doktora medicinskih nauka.

U Beogradu, 25.01. 2016.

Članovi komisije:

Prof. dr Višnja Ležaić,
Predsednica komisije,
Medicinski fakultet, Univerzitet u Beogradu

Prof. dr Nada Popović,
Medicinski fakultet, Univerzitet u Beogradu

Doc. dr Zorica Dimitrijević,
Medicinski fakultet, Univerzitet u Nišu

Mentor:

Prof. dr Sanja Simić-Ogrizović,
Medicinski fakultet, Univerzitet u Beogradu

Komentor:

Prof. dr Nevena Kalezić,
Medicinski fakultet, Univerzitet u Beogradu