

**UNIVERZITET U NIŠU
MEDICINSKI FAKULTET
NAUČNO NASTAVNOM VEĆU
ODBORU ZA DOKTORSKE STUDIJE**

Predmet: Referat komisije za ocenu i odbranu izrađene doktorske teze „**Uticaj faktora inflamacije na tok i ishod trudnoća komplikovanih preeklampsijom**“ kandidata dr Ane Daneve Markove, studenta doktorskih studija iz ginekologije i akušerstva.

Na osnovu odluke Naučno nastavnog veća Medicinskog fakulteta u Nišu od 05.03.2015. godine, i rešenjem Prodekana za poslediplomske studije Medicinskog fakulteta u Nišu broj 06-KM-141/10, imenovana je komisija za ocenu i odbranu doktorske teze dr Ane Daneve Markove pod naslovom „**Uticaj faktora inflamacije na tok i ishod trudnoća komplikovanih preeklampsijom**“ u sastavu:

1. Prof. dr Jasmina Popović, predsednik
2. Prof. dr Gordana Kocić, član
3. Doc. dr Dragana Radović Janošević, član
4. Doc. dr Milan Stefanović, mentor i član
5. Doc. dr Dejan Filimonović, član sa MF u Beogr

U skladu sa ovom odlukom, Komisija u imenovanom sastavu je pregledala urađenu doktorsku tezu i podnosi **Odboru za doktorske studije i Nastavno-naučnom veću** sledeći

R E F E R A T

1. Opšti podaci

Odlukom Nastavno-naučnog veća Medicinskog fakulteta u Nišu, doktorantudr Ani Danevoj Markovoj odobrena je tema doktorske disertacije pod naslovom „**Uticaj faktora inflamacije na tok i ishod trudnoća komplikovanih preeklampsijom**“. Dr Ana Daneva Markova izradila je doktorsku tezu pod odobrenim naslovom na Ginekološko-akušerskoj klinici Medicinskog fakulteta u Skoplju, Makedonija.

2. Odnos izrađene doktorske teze prema prijavi i odobrenju teme

Doktorska teza dr Ane Daneve Markoveurađena je u skladu sa obrazloženjem koje je kandidat priložio prilikom prijave teme. Naslov doktorske teze se u potpunosti podudara sa sadržajem izrađene doktorske teze. Odabrani ciljevi i metodologija su ostali nepromenjeni tokom izrade doktorske teze.

3. Tehnički opis izrađene doktorske teze

Doktorska teza dr Ane Daneve Markove sadrži devet poglavlja: Uvod, Cilj, Materijal i metode, Rezultati, Diskusija, Zaključak, Literatura, Abstrakti i Članci.

Disertacija sadrži 62 tabele, 33 grafikona i slika i 2 stavke (izjave). Broj citiranih referenci je 304.

Tekst je napisan u programu *Microsoft Word2007*, fontom *Times New Roman* veličine 12pt, sa proredom 1.15, štampan u A4 formatu.

4. Karakteristike i sadržajna struktura urađene doktorske teze

Doktorska teza dr Ane Daneve Markove pod nazivom, „**Uticaj faktora inflamacije na tok i ishod trudnoća komplikovanih preeklampsijom**“ je samostalan i originalan naučni rad iz oblasti ginekologije i akušerstva i predstavlja prospektivnu studiju sa dobro postavljenim ciljevima, koji su u skladu sa zadatom temom i primenom adekvatne savremene metodologije.

U poglavlju **Uvod** dat je detaljan opis i pregled literature ove doktorske disertacije. Dati su podaci globalne i lokalne incidence preeklampsije kao i zdravstvene i ekonomske konsekvence koje proizlaze iz njega. Obzirom na obrazloženu kompleksnost ovog kliničkog entiteta, autor daje pregled naučne literature o riziko faktorima koji dovode do preeklampsije, klasifikovane kao maternalni riziko faktori, riziko faktori povezani sa prethodnom anamnezom i riziko faktori povezani sa trudnoćom. Predstavljen je detaljni pregled patofizioloških mehanizama preeklampsije i to posebno mehanizmi inflamacije i imunologija preeklampsije. Ističući značaj pravovremenog postavljanja dijagnoze, kao i ograničenu mogućnost kontrole posledica nakon uspostavljanja mehanizma preeklampsije, fokus se menja od tretmana prema predikciji preeklampsije. Tretman onih koji su direktno ugroženi preeklampsijom nudi opciju za implementaciju intenzivnog prenatalnog nadzora i primenu profilaktičkih mera kod trudnica koje bi imale najveću korist od istih. Obzirom na to da je proces preeklampsije, u većini slučajeva refleksija mehanizma koji se aktiviraju još u drugom trimestru, predikcija njegove eksplicitne manifestacije je od ogromnog kliničkog značaja.

Ciljevi istraživanja su dobro postavljeni i formulisani na sledeći način:

1. Ustanoviti efekat nivoa faktora inflamacije na kliničke parametre trudnica sa preeklampsijom.
2. Definisati demografske i socio-ekonomske karakteristike trudnica u Makedoniji sa rizikom za preeklampsiju.
3. Proceniti uticaj faktora inflamacije na pojedine biofizičke i biohemijske markere za predikciju teške preeklampsije u odnosu na trudnice iz opšte akušerske populacije.
4. Proceniti dijagnostičke i prognostičke mogućnosti ispitivanja nivoa koncentracija faktora inflamacije u serumu majke, kao testa za procenu težine preeklampsije u trećem trimestru trudnoće.
5. Utvrditi zavisnost toka trudnoća, načina završavanja i perinatalnog ishoda u odnosu na nivo inflamatornog odgovora.

U poglavlju Materijal i metode daje se adekvatni i detaljni uvid korišćene metodologije. Istraživanje je izvršeno kao prospektivna klinička studija. Studija je sprovedena na Univerzitetnoj Klinici za ginekologiju i akušerstvo Univerziteta "Sv. Kiril i Metodij", Skoplje, Makedonija, u periodu od januara 2014 do avgusta 2014 godine. U studiju je bilo uključeno 100 trudnica sa jedноплодном trudnoćom od 28. do 40. gestacijske nedelje, hospitalizovanih na Univerzitetnoj klinici za ginekologiju i akušerstvo Skoplje na Odeljenju za visoko-rizičnu trudnoću sa *Dg: Preeclampsia* (umerena i teška).

Kontrolna grupa sastojala se od 50 trudnica sa jedноплодном trudnoćom od 28. do 40. gestacijske nedelje (+/- 1 nedelja), pariteta: primipara, paritet od 1 do 4 i paritet > 4) i maternalne starosti: < 20 godina, od 20 do 35 i > 35 godina, bez pretećih znakova hipertenzivne bolesti i preeklampsije, iste gestacijske nedelje (u sklopu redovne kontrole) kontrolisana na Klinici za ginekologiju i akušerstvo, Skoplje.

Inkluzioni kriterijumi bili su: jedноплодна trudnoća gestacijske starosti 28-40 gestacijskih nedelja sa simptomima preeklampsije (kliničko-laboratorijski verifikovana).

Ekskluzioni kriterijumi bili su : višepлодна trudnoća, hronična hipertenzija, cervikalna dilatacija veća od 3 cm, postojanje uterušnih kontrakcija, vaginalno krvarenje, trudnice sa rupturiranim vodenjakom, trudnoća ispod 28 gestacijskih nedelja. Trudnice sa bilo kakvim prethodnim ozbiljnim hroničnim bolestima (teška srčana oboljenja, bolesti vezivnog tkiva, neoplastične bolesti itd.) i trudnoće sa fetalnim malformacijama takođe su isključene iz studije.

Kod svake pacijentkinje nakon dobijanja informisane saglasnosti za učešće u studiji, uzeta je detaljna anamneza, ultrazvuk (biometrija ploda) i dopler-ispitivanje (utero-feto-placentna cirkulacija), napravljen je kardio-tokografski zapis, i kliničko-laboratorijsko ispitivanje za procenu težine preeklampsije (umerena ili teška).

Inflamatorni citokini analizirani su iz periferne krvi enzimskom amplifikacijskom hemiluminiscencijom na aparatu *Immulite 1000, Siemens Healthcare Diagnostics, USA*.

Dobijeni podaci su statistički obrađeni, a svi testovi urađeni korišćenjem softverskog paketa SPSS ver. 13.0. Korišćene su deskriptivne statističke analize za prikaz srednje vrednosti, standardne devijacije, koeficijenta varijacije i intervala varijacije. Kategoričke varijable su testirane Chi square i Fisher's exact testovima, a kvantitativne varijable su analizirane Nezavisnim test primerkom i Mann-Whitney's U testom, dok je za utvrđivanje korelacije među opisanim varijablama korišćen Pearson-ov koeficijent linearne korelacije. Urađena je binarna logistička regresija za utvrđivanje prediktivne uloge analiziranih parametara u predviđanjupreeklampsije.

U poglavlju Rezultati istraživanja iznose se rezultati logičnim redom, sa preglednim i sistematizovanim tabelama i grafikonima, koji u potpunosti proizilaze iz primenjene metodologije i prikazuju rezultate istraživanja u skladu sa postavljenim ciljevima.

Prosečna starost trudnica potvrđuje se kao visoko signifikantna ($p=0,004$) razlika u prosečnom uzrastu između trudnica sa srednjom i teškom preeklampsijom ($29,9\pm 4,7$ vs $34,2\pm 3,85$). U odnosu etničke pripadnosti, Albanke su zastupljene sa 56% u grupi sa preeklampsijom.

Trudnice ispitivanih grupa nesigifikantno se razlikuju u odnosu prosečne dužine gestacijske starosti, pozitivne anamneze za raniju preeklampsiju ipostojeći dijabetes u aktuelnoj trudnoći.

Multipla analiza ove studije kao nezavisne signifikantne faktore potvrđje: starost trudnice ≥ 35 godina, nuliparitet, sistolni krvni pritisak ≥ 160 mmHg, dijastolni krvni pritisak ≥ 100 mmHg, postojeću proteinuriju, vrednosti LDH u serumu ≥ 450 mg/L i broj trombocita $< 150\ 000 \times 10^9/L$. Između ostalih biohemijskih pokazatelja nisu nađene razlike kod ispitivanih grupa.

Oko uticaja faktora inflamacije kod trudnica sa umerenom preeklampsijom raste nivo :IL 1 β , IL2, IL 4, IL 8, IL10, TNF α i IL 6(statistički signifikantno) u poređenju sa normotenzivnom trudnoćom. Kod trudnica sa teškom preeklampsijom statistički se značajno smanjuje nivo IL-4 i IL-10, raste nivo koncentracije IL-2, IL-6, IL-8, IL-1 β , a ne menja se značajno nivo TNF- α u poređenju sa normotenzivnom trudnoćom.

Preeklampsija ima bitan uticaj na način porođaja trudnica i telesnu težinu novorođenčeta. Kod trudnica sa preeklampsijom i visokim nivoima faktora inflamacije, osim IL-4 i IL-10, značajno veći procenat porođaja završen je carskim rezom, a značajno manji procenat vaginalnim porođajem. Trudnoća se završila preterminskim porođajem kod nesigifikantno većeg procenta trudnica sa preeklampsijom i visokim nivoima faktora inflamacije, osim IL-4 i IL-10, prema trudnicama iz kontrolne grupe.

Najbolji statistički model za predviđanje težine preeklampsije je korelacija koncentracija serumskih interleukina (*IL-4* i *IL-10*) i indikatora preeklampsije: LDH, kreatinin, mokraćna kiselina i broj trombocita.

Upoglavlju Diskusija komentarisani su dobijeni rezultati poređeni sa podacima i za aktuelnih istraživanja su objašnjenje sličnosti i razlika.

Analizirajući rezultate ovog istraživanja, primećuje se da su najveće promene u koncentraciji proinflammatoryh citokina viđeni kod umerenih preeklampsija. Kod umerenih preeklampsija postoji povećana sinteza ovih citokina, a nivoi *IL-10* i *IL-8* dostižu maksimalne vrednosti. Kod teške preeklampsije, nivo proinflammatoryh citokina ostaje visok ili se ne razlikuje od vrednosti karakterističnih za fiziološku trudnoću. Tako, istraživanje je pokazalo da prema profilu citokina, nivoi proinflammatoryh citokina u trudnoćama komplikovanih preeklampsijom nisu samo povećani, što se potvrđuje rezultatima drugih istraživanja, menja se i odnos suprotnog bazena (antiinflammatoryh citokina).

Studija, saglasno već objavljenim rezultatima, ukazuje da indikatori rizika u ovom istraživanju mogu biti od pomoći u prepoznavanju trudnica sa najvećem rizikom za razvoj teške preeklampsije, a zatim i u ograničavanju morbiditeta i mortaliteta ovog patološkog stanja u trudnoći.

Za svaki od ovih dijagnostičkih testova prikazan je pregled dostupne literature, a dobijeni rezultate se najvećim delom podudaraju sa rezultatima iz literature.

Zaključak sadrži iskazane odgovore na postavljene ciljeve na istraživanja.

U **poglavlju Literatura** navedene su 304 reference citirane u tekstu uvoda i diskusije. Korišćena literatura je adekvatna, savremena i uključuje sve aspekte ove teze.

5. Ocena naučnog doprinosa doktorske teze

Izrađena doktorska disertacija predstavlja originalni naučno – istraživački rad sa značajnim doprinom u oblasti perinatologije. U svom istraživanju, autor je detaljnosa više aspekata analizirao uticaj faktora inflamacije na trudnoću komplikovanom preeklampsijom. Rezultati ispitivanja dijagnostičke potentnosti različitih parametara potvrdile su teoriju da poređenje promena u profilu citokina kod pacijenta sa preeklampsijom može omogućiti utvrđivanje nivo

kompenzacije ovog patološkog stanja. Ovo se dešava u pozadini povećanih koncentracija drugih proinflatornih citokina i smanjenih nivoa anti-inflatornih citokina *IL-4* i *IL-10*.

Disertacijata je potvrdila dijagnostičku potentnost i prediktivnu moć faktora inflamacije u predikciji težine preeklampsije. Iz prethodno izloženog može se zaključiti da u slučaju preeklampsije teže jenapraviti razliku između umerene i teške preeklampsije sa aspekta kliničara, kao i sa aspekta pacijenta, što bi optimalni skrining model trebalo da minimizira. Navedeni biofizički i biohemijski markeri mogu biti korišćeni u kliničkoj praksi za predviđanje težine preeklampsije i adekvatan tretman pacijenata što bi izdvojilo grupu pacijentkinja sa visokim rizikom, i njihovo lečenje u tercijernoj instituciji, a s druge strane smanjilo nepotrebnu hospitalizaciju, neželjene i neopravdane troškove i izlaganje različitim procedurama i tretmanima trudnica koje realno nisu u povišenom riziku za razvoj teške preeklampsije.

Ocena kandidata

Kandidat je pokazao sposobnost za korišćenje metodologije naučno-istraživačkog rada i sposobnost za korišćenje stručne literatur

Na osnovu prethodne analize urađene doktorske teze, komisija donosi sledeći zaključak:

ZAKLJUČAK

Doktorska disertacija je upešno realizovana, saglasno sa postavljenim ciljevima istraživanja. Dobijeni rezultati su jasno prikazani, a zkaljučci daju jasne odgovore na postavljene ciljeve istraživanja. Korišćena je aktuelna literatura najnovijeg datuma, kako u uvodu, diskusiji tako i pri upoređivanje dobijenih rezultata sa podacima iz svetskih studija.

Komisijau navedenom sastavu pozitivno ocenjuje i prihvata izrađenu doktorsku disertaciju kandidata dr Ane Daneve Markove pod naslovom „**Uticao faktora inflamacije na tok i ishod trudnoća komplikovanih preeklampsijom**“ i Nastavno-naučnom veću Medicinskog faktulteta u Nišu predlaže da usvoji pozitivnu ocenu ovog rada pokrene postupak za njegovu javnu usmenu odbranu.

Komisija za ocenu i odbranu doktorske disertacije:

1. Prof. dr Jasmina Popović, predsednik

2. Prof. dr Gordana Kocić, član

3. Doc. dr Dragana Radović Janošević, član

4. Doc. dr Milan Stefanović, mentor i član

5. Doc. dr Dejan Filimonović, člansa MF u Beogradu

Scientific contribution of the dissertation

PhD thesis, "The impact of factors of inflammation on the outcome of pregnancy complicated by preeclampsia" is an original scientific research with significant contribution in the field of perinatology. Risk indicators in this study may be helpful in identifying patients with one of the greatest risk for developing severe preeclampsia, and then decreasing morbidity and mortality caused by this complication during the pregnancy.

This study represents only the beginning of the interrogation diagnostic accuracy of different tests for the prediction of severe preeclampsia. It is necessary to work on designed studies in purpose to evaluate the additional value of each biomarker in which would be included cost and effectiveness, taking into account the subsequent intervention fetal-maternal morbidity and mortality, benefits and side effects of testing. The stated biochemical markers could be used in the clinical practice to predict severe preeclampsia and manage such symptomatic patients accordingly and in turn decreasing unnecessary hospital admissions, unreasonable costs and treatments in patients that have a low risk as well as providing an adequate level of care by referring high risk patients to tertiary perinatology centers.

A.Markova Daneva, M. Hadži-Lega, M.Stefanovic. Correlation of the system of cytokines in moderate and severe preeclampsia. RE: CEOG 2077/34.Oktober 28,2014.An International Journal-ISSN 0390-6663