

NAU NOM VE U MEDICINSKOG FAKULTETA
UNIVERZITETA U BEOGRDU

Na sednici Nau nog ve a Medicinskog fakulteta u Beogradu, održanoj dana 13.06.2016. godine, broj 5940/05, imenovana je komisija za ocenu završene doktorske disertacije pod naslovom:

„Klini ke karakteristike, dugoro na prognoza i funkcionalni ishod kod obolelih od neuroinvazivnog oblika Groznice Zapadnog Nila“

kandidata dr Aleksandra Uroševi a, zaposlenog u Klinici za infektivne i tropske bolesti Klini kog Centra Srbije u Beogradu. Mentor je Prof. Dr Olga Dulovi .

Komisija za ocenu završene doktorske disertacije imenovana je u sastavu:

1. Prof. dr or e Jevtovi , profesor Medicinskog fakulteta u Beogradu
2. Doc. dr Branko Miloševi , docent Medicinskog fakulteta u Beogradu
3. Prof. dr Svetlana Nikoli , professor Medicinskog fakulteta u Beogradu u penziji

Na osnovu analize priložene doktorske disertacije, komisija za ocenu završene doktorske disertacije jednoglasno podnosi Nau nom ve u Medicinskog fakulteta slede i

IZVEŠTAJ

A) Prikaz sadržaja doktorke disertacije

Doktorska disertacija dr Aleksandra Uroševi a pod nazivnom „Klini ke karakteristike, dugoro na prognoza i funkcionalni ishod kod obolelih od neuroinvazivnog oblika Groznice Zapadnog Nila“ napisana je na ukupno 97 strana i podeljena je na slede a poglavlja: uvod, ciljevi rada, materijal i metode, rezultati, diskusija, zaklju ci i reference. U disertaciji se nalazi ukupno 13 tabela, 26 grafikona i 4 slike. Doktorska disertacija sadrži sažetak na srpskom i engleskom jeziku, biografiju kandidata, podatke o komisiji i spisak skra enica koriš enih u tekstu.

U **uvodu** su iznete osnovne virusološke karakteristike, istorijat, ekološke i epidemiološke karakteristike virusa Zapadnog Nila (eng. West Nile virus-WNV). Predstavljena je patogeneza, kao i spektar klini kih manifestacija koje uzrokuje WNV. Definisani su neuroinvazivni oblik Groznice Zapadnog Nila (eng. West Nile virus neuroinvasive disease -

WNND) i kliničke forme WNND. Na adekvatan način su opisane metode citobiohemijske i virusološke dijagnostike WNND, pristup prevenciji i lečenju ovog oboljenja. Tako je prikazana je kratkoročna prognoza i ishod, a posebna pažnja je posvećena dugoročnoj prognozi i funkcionalnom ishodu ovih bolesnika.

Ciljevi rada su precizno definisani. Sastoje se od ispitivanja povezanosti različitih varijabli (demografski podaci, komorbiditeti, klinička forma, vrednosti hematoloških i biohemijskih analiza, komplikacije) sa smrtnim ishodom i dugoročnom prognozom kao i funkcionalnim ishodom obolelih od WNND. Tako je ispitivana povezanost navedenih varijabli sa razvojem teške kliničke forme oboljenja, odnosno encefalitisom. Prikazani su rezultati neuroradioloških pregleda kod bolesnika sa WNND. Tako je, kao cilj rada navedena je i procena prediktivnog značaja svih faktora koji su bili povezani sa razvojem encefalitisa, smrtnim ishodom i nepovoljnom dugoročnom prognozom i funkcionalnim ishodom obolelih.

U poglavlju **materijal i metode** je navedeno da je istraživanje sprovedeno u Klinici za infektivne i tropske bolesti Kliničkog Centra Srbije u Beogradu i da su njime obuhvaćeni oboleli od WNND tokom 2012. i 2013. godine. Detaljno su opisani kriterijumi za uključivanje u studiju, kao i kriterijumi za isključivanje iz studije. Navedeno je da su u istraživanju korišćeni kriterijumi za dijagnozu WNND Evropskog Centra za Kontrolu i Prevenciju Bolesti (European Centre for Disease Prevention and Control - ECDC), a pod kliničkim kriterijumima za uključivanje u ispitivanje podrazumevalo se da oboleli imaju kliničku sliku neuroinvazivne bolesti odnosno virusnog meningitisa, virusnog encefalitisa i/ili akutne flakcidne slabosti jednog ili više ekstremiteta. Detaljno su navedene laboratorijske metode koje su korišćene. Analizirani su osnovni epidemiološki podaci, uzrast i pol bolesnika, komorbiditeti, simptomi i znaci oboljenja, neuroradiološki nalazi i komplikacije kod bolesnika sa WNND. Bolesnici su podeljeni u dve kategorije, obolelih sa meningitisom i obolelih sa encefalitisom. Oboleli sa znacima akutne flakcidne slabosti udružene sa meningitisom ili encefalitisom su se svrstavali u jednu od te dve kategorije. Nepovoljnom kratkoročnom prognozom smatrao se smrtni ishod, a nepovoljnom dugoročnom prognozom se smatrala vrednost modifikovane Rankin Skale 0 (potpuni oporavak). Prikazane su prosečne vrednosti Barthel indeksa posle godinu dana praćenja. Tumačenje modifikovane Rankin Skale i formular Barthel indeksa su priloženi u prilogu.

U statističkoj obradi podataka autor je koristio SPSS verzija 11.5, a navedeno je da su korišćene metode deskriptivne statistike i testovi za procenu normalnosti raspodele određenih

varijabli. Parametarska obeležja posmatranja su analizirana uz pomoć Studentovog T-testa, a analiza neparametarskih obeležja posmatranja je vršena uz pomoć χ^2 test (kategorijska obeležja) ili Mann-Whitney U test (numerička obeležja), uz nivo značajnosti je 0.05 i interval poverenja 95%. Multivarijantna logistička regresija, uz pomoć "Forward-Wald" modela, korišćena je kako bi se odredio prediktivni značaj svih faktora koji su na osnovu univarijantne analize bili statistički značajno povezani ($p < 0.05$) sa razvojem encefalitisa, smrtnim ishodom i nepovoljnom dugoročnom prognozom i funkcionalnim ishodom. Korišćen je nivo značajnosti 0.05, a rezultati su prikazani kao "Odds ratio", uz interval poverenja 95%.

Ova studija je sprovedena u skladu sa Helsinškom deklaracijom, a odobrena je i od strane Etičkog komiteta, Medicinskog fakulteta, Univerziteta u Beogradu.

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 prikazuju najvažnije nalaze koji su proistekli iz rezultata rada.

Korišćena **literatura** sadrži spisak od 157 referenci.

B) Kratak opis postignutih rezultata

Autor navodi da je 207 bolesnika ispunilo kriterijume za uključivanje u istraživanje. Najveći broj obolelih od WNND koji su uključeni u istraživanje bilo je iz Beogradskog okruga, što je predstavljeno na grafikonu. Dominantan procenat bolesnika (72%) bio je uzrasta 60 i više godina, a navedeni uzrast bio je povezan sa razvojem encefalitisa ($p < 0.001$), sa smrtnim ishodom ($p < 0.002$) i nepovoljnom dugoročnom prognozom i funkcionalnim ishodom ($p < 0.001$). U ispitivanom uzorku autor navodi predominaciju muškog pola sa 64% bolesnika, ali autor nije dokazao povezanost pola sa razvojem encefalitisa, smrtnim ishodom i dugoročnom prognozom. Među komorbiditetima, faktor rizika za razvoj encefalitisa kod obolelih od WNND bila je arterijska hipertenzija ($p = 0.001$), a faktori povezani sa smrtnim ishodom bili su arterijska hipertenzija (0.028), hronična bubrežna insuficijencija (0.021) i cerebrovaskularno oboljenje (0.012). Komorbiditeti povezani sa nepovoljnom dugoročnom prognozom bili su arterijska hipertenzija (0.007), bubrežna insuficijencija (0.021) i prethodno cerebrovaskularno oboljenje (0.021). Prosečno trajanje simptoma kod obolelih pri prijemu bilo je 5.4 dana, a najčešći simptomi su povišena temperatura (97%) i malaksalost (66%).

Poreme aj svesti je bio naj eš i znak afekcije moždanog parenhima, registrovan kod 60% obolelih. Koma je registrovana kod 32 bolesnika, a njeno prisustvo bilo je statisti ki zna ajno povezano sa smrtnim ishodom ($p<0.001$). Klini ka slika encefalitisa bila je dominantna prezentacija WNND, registrovana kod 78% bolesnika, a ova forma oboljenja bila je zna ajno povezana sa smrtnim ishodom ($p<0.001$). Akutna flakcidna slabost je registrovana kod 30 bolesnika i kod svih je bila udružena sa encefalitisom, a njeno prisustvo je bilo zna ajno povezano sa smrtnim ishodom ($p=0.001$). Klini ki znake rombencefalitisa imalo je 84 bolesnika, a ova klini ka slika bila je povezana sa povoljnijom kratkoro nom prognozom. Hospitalizacija duža od mesec dana je bila neophodna kod 18 bolesnika sa encefalitisom, od kojih je 12 bolesnika bilo sa znacima akutne flakcidne slabosti ekstremiteta, a statisti ki je utvr eno da je akutna flakcidna slabost ekstremiteta predstavljala faktor povezan sa hospitalizacijom dužom od mesec dana ($p<0.001$). Povoljna dugoro na prognoza, odnosno potpuni oporavak posle godinu dana od otpusta zna ajno eš e je registrovan kod bolesnika sa meningitisom nego kod bolesnika sa encefalitisom ($p<0.001$). Bolesnici sa rombencefalitisom imali su sli nu dugoro nu prognozu poput oboleli od encefalitisa, dok su najnepovoljniju dugoro nu prognozu i funkcionalni ishod imali oboleli sa akutnom flakcidnom slaboš u. Navedeni su simptomi koji se održavaju posle godinu dana pra enja, a oni naj eš e uklju uju malaksalost (64%), slabu koncentraciju(29%) i mialgije (27%). Naj eš e abnormalnosti u hematološkim i biohemijskim analizama koje se registruju kod obolelih bili su leukocitoza sa limfocitopenijom, anemija, povišene vrednosti enzima jetre i miši a. Vrednosti serumskog CRP iznad 100 mg/L i proteinorahije iznad 1g/L bile su zna ajno eš e registrovane kod bolesnika sa klini kom slikom encefalitisa, a iste vrednosti su bile zna ajno povezane sa smrtnim ishodom . U multivarijantnoj logisti koj regresiji proteinorahija $>1\text{g/L}$ ($p=0.011$; OR 7.21; 95% CI 1.56-33.8) i CRP >100 mg/L ($p=0.002$; OR 12.07; 95% CI 2.43-60.02) bili su nezavisni prediktori smrtnog ishoda kod obolelih od WNND. Citobiohemijske analize likvora ukazivale su na prose nu vrednost leukocita od 146 po mikrolitru i blagu predominaciju limfocita (52%). Hipoglikorahija je registrovana kod oko 9% bolesnika. Patološki nalaz kompjuterizovane tomografije mozga je opisan kod 25% bolesnika kojima je ura en ovaj pregled i kod ve ine je predstavljao stare ishemijske promene i kortikalne reduktivne promene. Kod 6 bolesnika na magnetnoj rezonanci mozga opisane su hiperintenzne T2W/FLAIR lezije u regijama tipi nim za WNND. Najteža komplikacija bila je respiratorna insuficijencija sa potrebom za mehani kom ventilacionom potporom i bila je neophodna kod 15% bolesnika, a njeno prisustvo je bilo povezano sa smrtnim ishodom ($p<0.001$).

Na osnovu rezultata multivarijantne analize, nezavisni prediktor razvoja encefalitisa bio je uzrast 60 i više godina (OR 3.4; 95% CI 1.6-7.3). Nezavisni prediktori smrtnog ishoda bili su uzrast 60 i više godina (OR 15.3; 95% CI 1.6-140.8), prethodno le eno cerebrovaskularno oboljenje (OR 7.1; 95% CI 1.3-39.9) i razvoj kome (OR 153.1; 95% CI 33.1-707.5). Klinička slika encefalitisa bila je jedini nezavisni prediktor nepovoljne dugoročne prognoze (OR 9.1; 95% CI 3.3-25.1).

C) Uporedna analiza doktorske disertacije sa rezultatima iz literature

Više autora ukazuje na povezanost epidemija u Srbiji 2012. i 2013. godine sa linijom 2 WNV (Petrovic i sar. 2013, Hernández-Triana LM i sar. 2014.). Populacija uzrasta 60 i više godina bila je značajno zastupljenija i obuhvatala je 72% ukupno obolelih, a drugi autori navode značajno veću prevalenciju ovog oboljenja među osobama odmakle životne dobi u poređenju sa mlađim osobama, što se pre svega odnosi na encefalitis (Carson i sar. 2012, Lindsey i sar. 2010). Na povezanost starosti sa encefalitisom uzrokovanim WNV, kao i smrtnim ishodom ukazuju brojne studije (Pervanidou i sar. 2014, Murray i sar. 2008). U disertaciji prevalencija encefalitisa bila je značajno veća (80%) u kategoriji obolelih uzrasta 60 i više godina, pri čemu je taj uzrast predstavljao jedan od prediktora smrtnog ishoda. Klee i saradnici su pronašli da oboleli od WNV mlađi i od 65 godina imaju veću verovatnoću potpunog oporavka (Klee i sar. 2004). Potpuni oporavak u disertaciji je registrovan kod 32% bolesnika uzrasta 60 i više godina i kod značajno većeg broja mlađih bolesnika (62%). Jedini faktor rizika među hroničnim bolestima povezan sa razvojem encefalitisa, bila je arterijska hipertenzija. Lindsey i sar. (2012.) ukazuju na hroničnu bubrežnu bolest, istoriju maligne bolesti, zloupotrebu alkohola, šećernu bolest i arterijsku hipertenziju kao značajne faktore za razvoj encefalitisa. Murray i sar. (2008.) kao faktore rizika za smrtni ishod navode hroničnu bubrežnu bolest, hronični C virusni hepatitis i imunosupresiju. U disertaciji kod bolesnika sa WNV faktori povezani sa smrtnim ishodom bili su arterijska hipertenzija ($p=0.028$), hronična bubrežna insuficijencija ($p=0.021$) i prethodno cerebrovaskularno oboljenje ($p=0.012$). Hronične bolesti povezane sa nepovoljnim oporavkom i funkcionalnim ishodom posle godinu dana praćenja u ovom istraživanju bili su arterijska hipertenzija ($p=0.007$), koronarna bolest ($p=0.021$) i imunosupresija ($p=0.021$). Kod bolesnika sa arterijskom hipertenzijom ili šećernom bolešću povećan je rizik za perzistiranje simptoma posle 6 meseci praćenja (Cook i sar. 2010).

Naj eš i simptomi WNND koji se navode u literaturi su povišena temperatura (70-100%), glavobolja (47-100%), malaksalost (42-85%) i poreme aj svesti (46-100%) (Davis i sar. 2006. Weiss i sar. 2001; Jeha i sar. 2003). U disertaciji naju estaliji simptomi WNND su bili povišena temperatura (98%), malaksalost (70%) i neurološki simptomi (68%). Kratkoro na prognoza meningitisa je povoljna, bez smrtnih ishoda. Dugoro na prognoza i funkcionalni ishod bolesnika sa meningitisom su povoljni, s obzirom da je potpuni oporavak (mRS=0) registrovan kod 85% bolesnika, a povoljnu prognozu bolesnika s meningitisom navode i drugi autori (Sejvar i sar. 2003, Klee i sar. 2004.). Klini ka slika encefalitisa bila je faktor zna ajno povezan sa smrtnim ishodom, a smrtnost u kategoriji bolesnika sa WNND i encefalitisom bila je 20.5%. Ve ina svetskih autora navodi pove anu stopu smrtnosti u kategoriji obolelih sa encefalitisom u pore enju sa ukupnim brojem bolesnika sa WNND (Platonov i sar. 2001, Tsai i sar. 1998, Chowers i sar. 2001). Bolesnici sa encefalitisom imali su nepovoljniju dugoro nu prognozu i funkcionalni ishod u pore enju sa bolesnicima sa meningitisom, što navode i drugi autori (Loeb i sar. 2008, Gottfried i sar. 2005).

U velikoj seriji od 250 serološki potvr enih slu ajeva WNND, Tyler i saradnici su prijavili prisustvo pleocitoze u CST kod 97% bolesnika sa meningitisom i prose ne vrednosti leukocita u CST od $226/\text{mm}^3$ (Tyler i sar. 2006). Druge studije opisuju pleocitozu kod WNND u opsegu od 0 do $2317/\text{mm}^3$ (Chowers i sar. 2001. , Weiss i sar. 2001). Rezultati navedeni u disertaciji su sli ni rezultatima Tyler-a i saradnika, kod 95% bolesnika sa encefalitisom i 91% sa meningitisom je verifikovana pleocitoza do $500 \text{ leukocita}/\text{mm}^3$, sa prose nom vrednoš u pleocitoze od 145 leukocita, kao i zna ajno ve a u estalost proteinorahije preko 1g/L kod bolesnika sa encefalitisom nego onih sa meningitisom. Ovaj rezultat je u saglasnosti sa rezultatima Tyler-a i saradnika. Hipoglikorahija je bila prisutna kod oko 10% bolesnika, a u literaturi se ne navodi da je snižena vrednost glukoze u likvoru karakteristika arbovirusnih infekcija CNS, pa ni WNND (Cunha i sar. 2004).

U disertaciji kompjuterizovana tomografija, što navode i drugi autori, naj eš e ukazuje na stare promene koje su posledica cerebrovaskularnih oboljenja i znake u vezi sa odmaklim životnim dobom - redukcija moždanog parenhima (Chowers i sar. 2001). Kod 6% bolesnika sa encefalitisom opisane su hiperintenzne promene na T2/FLAIR sekvencama, a najkarakteristi niji nalaz MR mozga kod bolesnika sa encefalitisom predstavljaju hiperintenzne promene u regiji bazalnih ganglija i talamusa na T2 i FLAIR sekvencama (Petropoulou i sar. 2005.).

Sejvar i koautori navode da se respiratorna insuficijencija naj češće javlja kod obolelih sa akutnom flakcidnom slaboš u, kao i da je njeno prisustvo često povezano sa smrtnim ishodom (Sejvar i sar. 2006). Respiratorna insuficijencija s potrebom za mehani kom ventilacijom bila je najteža komplikacija, neophodna kod 15% bolesnika, od kojih je skoro polovina imala znake akutne flakcidne slabosti. Respiratorna insuficijencija je bila povezana sa smrtnim ishodom i nepovoljnom dugoro nom prognozom.

D) Objavljeni radovi koji ine deo doktorske disertacije

Aleksandar Uroševi , Olga Dulovi , Branko Miloševi , Nebojša Maksi , Nataša Popovi , Ivana Miloševi , Dragan Deli , or e Jevtovi , Jasmina Poluga, Jelena Jordovi , Sanja Peruni i , Goran Stevanovi . **The importance of haematological and biochemical findings in patients with West Nile virus neuroinvasive disease.** Journal of Medical Biochemistry (in press).

E) Zaklju ak (obrazloženje nau nog doprinosa)

Doktorska disertacija „**Klini ke karakteristike, dugoro na prognoza i funkcionalni ishod kod obolelih od neuroinvazivnog oblika Groznice Zapadnog Nila**“ dr Aleksandra Uroševi a prikazuje najvažnije klini ke karakteristike i faktore kratkoro ne i dugoro ne prognoze kod bolesnika sa WNND. S obzirom da su prvi humani slu ajevi infekcije WNV u Srbiji registrovani 2012. ovo istraživanje u našoj populaciji predstavlja originalni nau ni doprinos. Posebno je važno naglasiti da su epidemije 2012. i 2013. u Srbiji uzrokovane linijom 2 WNV, dok se ve ina istraživanja svetskih autora odnose na epidemije uzrokovane linijom 1. Prikazani su najvažniji faktori rizika za razvoj encefalitisa kao teške klini ke forme WNND, kao i faktori rizika povezani sa smrtnim ishodom kod bolesnika u Srbiji, što je od najve eg zna aja u primeni preventivnih mera osetljivih kategorija naše populacije. Nepovoljna dugoro na prognoza i nepotpun oporavak bolesnika sa WNND i encefalitisom ukazuju na potrebu da se ovim bolesnicima obezbede adekvatni uslovi za prolongiranu hospitalizaciju i primenu neophodnih rehabilitacionih mera.

Ova doktorska disertacija je ura ena prema svim principima nau nog istraživanja. Ciljevi su bili precizno definisani, nau ni 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 i zaključci.

Na osnovu svega navedenog, i imajući u vidu dosadašnji naučni rad kandidata, komisija predlaže Naučnom vešću u Medicinskom fakultetu Univerziteta u Beogradu da prihvati doktorsku disertaciju dr Aleksandra Uroševića i odobri njenu javnu odbranu radi sticanja akademske titule doktora medicinskih nauka.

U Beogradu, 05.07.2016.

Članovi Komisije:

Prof. dr Goran Jevtović

Doc. dr Branko Milošević

Prof. dr Svetlana Nikolić

Mentor:

Prof. dr Olga Dulović
