

NAU NOM VE U MEDICINSKOG FAKULTETA

UNIVERZITETA U BEOGRADU

Na sednici Nau nog ve a Medicinskog fakulteta u Beogradu, održanoj dana 28.04. 2016. godine, broj 5940/4 imenovana je komisija za ocenu završene doktorske disertacije pod naslovom:

„Uticaj promene reaktivnosti hipotalamo-hipofizno-adrenalne osovine na ishod kod bolesnika sa sistemskim inflamatornim odgovorom”

kandidata mr dr Jelice Bjeki Macut, zaposlene u Klini ko-bolni kom centru Bežanijska kosa u Beogradu, kao lekar specijalista interne medicine i subspecijalista endokrinologije. Mentor je Prof. dr Miloš Žarkovi .

Komisija za ocenu završene doktorske disertacije imenovana je u sastavu:

1. Prof.dr Nebojša Lali , redovni profesor, Klinike za endokrinologiju, dijabetes i bolesti metabolizma KCS, Medicinskog fakulteta, Univerziteta u Beogradu
2. Prof. dr Svetlana Vujovi , redovni profesor, Klinike za endokrinologiju, dijabetes i bolesti metabolizma KCS, Medicinskog fakulteta, Univerziteta u Beogradu
3. Prof dr Svetlana Ignjatovi , redovni profesor, Farmaceutskog fakulteta, Univerziteta u Beogradu.

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

IZVEŠTAJ

A) Prikaz sadržaja doktorske disertacije

Doktorska disertacija mr sci Jelice Bjeki Macut napisana je na 115 strana i podeljena je na slede a poglavlja: uvod, ciljevi istraživanja, materijal i metode, rezultati, diskusija, zaključci i literatura. U disertaciji se nalazi ukupno 8 tabela. Doktorska disertacija sadrži sažetak na srpskom i engleskom jeziku, biografiju kandidata, podatke o komisiji i spisak skraćenica korištenih u tekstu.

U **uvodu** je definisan sindrom sistemskog inflamatornog odgovora (SIRS) kao inflamatorno stanje celog organizma koji je najčešće uzrokovan infekcijom ili sepsom. Ukazano je da se SIRS danas smatra delom „citokinske oluje“ koja se manifestuje disregulacijom različitih citokina. Istaknuto je da SIRS dovodi do značajnih promena u koncentracijama različitih hormona, a pre svega do promene dinamike kortizola ukazujući na disocijaciju između adrenalnog korteksa i hipotalamo-hipofizne jedinice što se objašnjava direktnim efektom citokina na koru nadbubrega. Zbog toga je usvojeno da odgovor kortizola na stimulaciju sa adrenokortikotropnim hormonom (ACTH) predstavlja važan prediktor ishoda kod kritično bolesnih. U skladu sa navednim, ukazano je na postojanje potrebe da se ustanovi senzitivni test za procenu adrenalne funkcije, i istaknuto da niskodozni test sa 1 µg ACTH predstavlja senzitivniji test u odnosu na standardni test sa 250 µg ACTH za detekciju specifičnih formi adrenalne insuficijencije u koju spada hipotalamo-hipofizna disfunkcija.

Prikazana su aktuelna saznanja o regulaciji hipotalamo-hipofizno-adrenalne osovine, njene cirkadijarne aktivnosti, odgovoru na stres, funkcionisanju tokom teške bolesti i o savremenom konceptu relativne adrenalne insuficijencije. Istaknuti su standardni i alternativni pristupi u proceni adrenalne funkcije. Tako je pored stimulacionih testova sa ACTH ukazano na specifičnosti određivanja koncentracija slobodnog serumskog i salivarnog kortizola, ulogu drugih ACTH zavisnih adrenalnih steroida kao što je dehidroepiandrosteron (DHEA) i dehidroepiandrosteron sulfat (DHEA-S). Analizirana je uloga proinflamatornih citokina kao što su faktor tumorske nekroze alfa (TNF α), interleukin (IL)-1, IL-6 i IL-8, i antiinflamatorni citokini kao što je IL-10 i IL-13. Posebno je ukazano na postojanje

višestrukih molekularnih mehanizama uključenih u započinjanje, napredovanje i ishod SIRS, kao što je uloga hemoksigenaze 1 u odgovoru na oksidativni stres, hipoksija inducibilnog faktora-1 (HIF-1) u odgovoru na ishemiju ili povećane ekspresije inducibilne azot oksid sintaze (iNOS) iRNK, iNOS proteina i posledično povećano stvaranje endogenog vazodilatatornog molekula azot monoksida.

Ciljevi rada su precizno definisani. Ciljevi doktorske teze bili su da se ispita: (a) odnos koncentracije inflamatornih citokina, ACTH i odgovora nadbubrega na stimulaciju sa sintetskim ACTH u standardizovanim vremenskim periodima i (b) određivanje odnosa između u navedenih parametara i mortaliteta.

U poglavlju **Materijal i metode** navedeno je da je kliničko praćenje i testiranje rađeno na Odeljenju pulmologije i Respiratornoj intenzivnoj jedinici Kliničko-bolničkog centra Bežanjska kosa u Beogradu. Sve eksperimentalne procedure su bile odobrene od strane Etičkog komiteta Medicinskog fakulteta u Beogradu. Opisan je način odabira eksperimentalne grupe obolelih sa SIRS-om. Precizno je opisana procena ozbiljnosti bolesti pomoću APACHE II skora i procena organske disfunkcije pomoću SOFA skora. Navedene su procedure uzimanja uzoraka krvi ispitivanih bolesnika pri prijemu u jedinicu intenzivnog lečenja i posle sedam dana praćenja obolelih. Detaljno je opisana procedura funkcionalnog ispitivanja kore nadbubrega pomoću niskodoznog ACTH testa sa 1 µg uz određivanje kortizola u precizno definisanim vremenskim intervalima. Nabrojane su statističke metode korišćene za procenu povezanosti kliničkog statusa obolelih, nivoa citokina i odgovora kortizola na stimulaciju pomoću ACTH.

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 172 reference.

B) Kratak opis postignutih rezultata

Ovo istraživanje je pokazalo da maksimalni odgovor kortizola tokom ACTH testa prediktuju ishod hospitalizacije u respiratornoj intenzivnoj jedinici dok korišteni klinički skorovi APACHE II i SOFA uspešno prediktuju i ukupno preživljavanje obolelih. Pokazano je da niskodozni ACTH test sa 1 µg predstavlja osetljiv test za otkrivanje specifičnih formi adrenalne insuficijencije, a koja može nastati sa stanjem SIRS-a. Na početku SIRS-a dobijena je značajna korelacija koncentracije IL-6, baznog kortizola i oba prethodna klinička skora. Pokazano je da pri prijemu u jedinicu intenzivnog lečenja maksimalni odgovor kortizola tokom testa zavisi od interakcije IL-6 i nivoa ACTH pri prijemu u respiratornu intenzivnu jedinicu.

Zabeleženo je 5 (9.6%) smrtnih ishoda tokom sedmodnevnog preležanja 54 bolesnika sa postavljenom dijagnozom SIRS na prijemu u respiratornu intenzivnu jedinicu.

Bazalne koncentracije ACTH nisu se razlikovale između trenutka prijema u respiratornu intenzivnu jedinicu i posle 7 dana preležanja. Bazalne koncentracije kortizola i vrednosti kortizola tokom niskodoznog ACTH testa nisu se razlikovale između početka preležanja i posle 7 dana. Porast kortizola manja od 250 nmol/L tokom niskodoznog ACTH testa je nastupio kod 14 (25.9%) od ukupno 54 bolesnika kod kojih je dijagnostikovano SIRS. U celjoj grupi obolelih je dobijena statistički značajna razlika u koncentracijama IL-6 i IL-18 na početku preležanja pri dijagnozi SIRS-a i posle 7 dana provedenih u respiratornoj intenzivnoj nezi.

Na prijemu u RIJ dobijena je značajna pozitivna korelacija između bazne vrednosti kortizola i prethodnih kliničkih skorova APACHE II i SOFA, kao i bazne vrednosti kortizola i maksimalne vrednosti kortizola tokom ACTH testa. Značajna korelacija je dobijena između IL-6 i bazne vrednosti kortizola, kao i IL-6 i prethodnih kliničkih skorova APACHE II i SOFA. Nedelju dana po prijemu u RIJ dobijene su značajne korelacije između bazne vrednosti kortizola i maksimalne vrednosti kortizola tokom ACTH testa kao i između koncentracija IL-6 i IL-13.

Pokazano je da ženski pol i maksimalni odgovor kortizola tokom niskodoznog testa prediktovao trajanje hospitalizacije u respiratornoj intenzivnoj nezi. Procenjivani klinički skorovi APACHE II i SOFA na prijemu u respiratornu intenzivnu jedinicu su prediktovali trajanje hospitalizacije, mortalitet i ukupno preživljavanje.

Koncentracija IL-6 na prijemu u respiratornu intenzivnu jedinicu je prediktovala primenu aparata za veštačku ventilaciju kod obolelih sa SIRS-om. Pokazano je da interakcija IL-6 i koncentracija ACTH na prijemu u respiratornu intenzivnu jedinicu utiče na maksimalni odgovor kortizola tokom ACTH testa.

C) Usporedna analiza doktorske disertacije sa rezultatima iz literature

Istraživanja ove doktorske disertacije i njeni rezultati ukazuju da razlika maksimalnog odgovora kortizola tokom ACTH testa na početku SIRS-a i posle nedelju dana praćenja bolesnika predstavlja prediktor trajanja hospitalizacije u jedinici intenzivne nege dok klinički skorovi APACHE II i SOFA predstavljaju najbolje prediktore dužine hospitalizacije, mortaliteta, ishoda hospitalizacije kao i ukupnog preživljavanja.

Studija je pokazala da je kod 14 (25.9%) od 54 ispitanika i praćenih bolesnika postojao porast kortizola manji od 250 nmol/L tokom ACTH testa. Dobijeni rezultati su u skladu sa sličnom prevalencom relativne adrenalne disfunkcije zabeležene u bolesnika u jedinici intenzivne nege koje su pokazane u sličnim dizajneranim studijama (Arafah i sar., 2006). Istraživanje ove doktorske disertacije je pokazalo da postoji odnos između nivoa kortizola u plazmi i povišenog rizika za smrtni ishod u kritično obolelim ljudima ali da je smrtni ishod zabeležen kod 3 (60%) od 5 bolesnika koji su imali porast kortizola manji od 250 nmol/L. Ovakvi rezultati su objašnjeni postojanjem SIRS-a kod praćenih bolesnika za razliku od drugih studija koje su pratile pacijente sa sepsom i smrtnim ishodom kod 100% ovakvih bolesnika (Rothwell i sar., 1991). Nalazi doktorske disertacije pokazuju da razlika maksimalnog porasta kortizola (ΔC_{max}) dobijena u studiji nadmašuje tačku preseka porasta kortizola koji je predložen za procenu ishoda kod kritično bolesnih (Annane i sar., 2000) što je u skladu sa niskom prevalencom relativne adrenalne insuficijencije kod praćenih bolesnika sa SIRS-om u ovom istraživanju. Sa druge strane, studija je pokazala da bi se ΔC_{max} porast

kortizola mogao koristiti za predikciju dužine hospitalizacije u jedinici intenzivne nege i predikciji nastanka smrtnog ishoda. Pored max, istraživanje je pokazalo da klinički skorovi APACHE II i SOFA prediktuju dužinu hospitalizacije u RIJ, mortalitet i celokupno preživljavanje što je u saglasnosti sa nalazima drugih studija (Vincent i sar., 1996; Ferreira i sar., 2001).

Rezultati doktorske disertacije su pokazali postojanje nisko normalnih nivoa ACTH u obe vremenske tačke praćenja. Sa druge strane, maksimalni odgovor kortizola tokom ACTH testa je pokazao jasno sniženje na ponovljenom testiranju i da niskodozni test sa 1 µg ACTH predstavlja senzitivniji test u otkrivanju blage sekundarne adrenalne insuficijencije u odnosu na standardni stimulacioni test sa 250 µg ACTH što je pokazano u studiji Žarković i sar. (1999). Dobijeni rezultati su u skladu sa drugim autorima koji su pokazali suprimovan nivo ACTH tokom prve nedelje kritične bolesti (Boonen i sar., 2013).

Istraživanja doktorske disertacije o ulozi citokina ukazuju na promenu koncentracija interleukina u praćenju grupe bolesnika sa SIRS-om. Značajno niži nivo IL-6 je pokazan posle nedelju dana praćenja uz empirijsku primenu antibiotske terapije i što je u skladu sa nalazima drugih autora (Igonin i sar., 2004). Izveden je zaključak da određivanje serumskog IL-6 predstavlja najosetljiviji i najspecifičiji od indikatora koji se koriste za procenu odgovora na lečenje bolesnika sa SIRS-om kao što je u slučaju bolesnika sa pneumonijom kod kojih koncentracije IL-6 koreliraju sa ozbiljnošću bolesti i sa stepenom multiple organske sistemske slabosti (Lim i sar., 2003) i da mogu da prediktuju smrtni ishod, razvoj nozokomijalne infekcije i ubrzani nastanak šoka (Moore i sar., 2004). Rezultati doktorske disertacije ukazuju na postojanje značajne povezanosti IL-6 sa težinom bolesti i ishodom bolesti procenjenih kliničkim skorovima kao i da u praćenju grupe bolesnika maksimalni odgovor kortizola zavisi od interakcije IL-6 i nivoa ACTH. Kada su analizirane koncentracije IL-13, studija je pokazala relativno niske prosečne koncentracije IL-13 koje se nisu razlikovale tokom perioda praćenja što je objašnjeno postojanjem relativno blažeg oblika SIRS-a ili pomećenom vremenskom sekvencom inicijalnog testiranja bolesnika. Međutim, ukazano je i na značaj povezanosti IL-13 sa IL-6 u nastanku inflamatornog odgovora u ispitivanoj grupi bolesnika sa SIRS-om govoreći činjenica da je tokom inflamatornog sindroma postojala

zna ajna povezanost sa proinflamatornim IL-6 (Socha i sar., 2006). Pokazano je da su koncentracije IL-18 kod bolesnika sa peritonitisom zna ajno više ukoliko razviju SIRS (Ikuta i sar., 2003). Rezultati ove doktorske studije su pokazali zna ajan pad IL-18 tokom pra enja u intenzivnoj nezi i izostanak udružanosti sa proinflamatornim IL-6 ime se objasnila relativno niska stopa smrtnosti kod pra enih bolesnika.

D) Objavljeni radovi koji ine deo doktorske disertacije

1. **Bjeki -Macut J**, Radosavljevi V, Andri Z, Ili D, Stanojlovi O, Vojnovi Milutinovi D, Boži Anti I, Zdravkovi M, Hini S, Macut D, Žarkovi M. Cortisol response to low dose (1 ug) ACTH stimulation for the prediction of the outcome of patients with systemic inflammatory response syndrome. J Med Biochem 2016; 35. DOI: 10.1515/jomb-2016-0015

E) Zaključak (obrazloženje nau nog doprinosa)

Doktorska disertacija „**Uticaj promene reaktivnosti hipotalamo-hipofizno-adrenalne osovine na ishod kod bolesnika sa sistemskim inflamatornim odgovorom**” dr Jelice Bjeki Macut predstavlja originalni nau ni doprinos u razumevanju mehanizama koji dovode do disfunkcije adrenalne osovine u SIRS-u uzrokovanog ozbiljnim inflamatornim stanjem. Rezultati studije su pokazali da postoji poreme an odgovor ACTH i kortizola kao klju nih hormona koji u estvuju u regulaciji adrenalne osovine, i da niskodozni ACTH test predstavlja senzitivni funkcionalni test za otkrivanje relativne adrenalne insuficijencije kod bolesnika sa SIRS-om. Ukazano je na zna ajnu ulogu i mesto proinflamatornih citokina, a pre svega IL-6 u proceni odgovora na le enje bolesnika sa SIRS-om, i na postojanje zna ajne povezanost IL-6 sa težinom bolesti i ishodom obolelih. Pokazano je da u pra enoj grupi bolesnika maksimalni odgovor kortizola zavisi od interakcije IL-6 i nivoa ACTH.

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 sistemati no prikazani i diskutovani, a iz njih su izvedeni odgovaraju i zaključci.

Na osnovu svega navedenog, i imaju i u vidu dosadašnji nau ni rad kandidata, komisija predlaže Nau nom ve u Medicinskog fakulteta Univerziteta u Beogradu da prihvati doktorsku disertaciju dr Jelice Bjeki Macut i odobri njenu javnu odbranu radi sticanja akademske titule doktora medicinskih nauka.

U Beogradu, 25.06.2016.

lanovi Komisije:

Prof. dr Nebojša Lali

Prof. dr Svetlana Vujovi

Prof. dr Svetlana Ignjatovi

Mentor:

Prof. dr Miloš Žarkovi
