



Примљено: 8.12.2022.		
Орг. јед.	Број	Прилог

[Signature]

ИЗВЈЕШТАЈ о оцјени урађене докторске дисертације

I ПОДАЦИ О КОМИСИЈИ

Na osnovu člana 35. i 36. Pravila studiranja na III ciklusu studija, Univerziteta u Banjoj Luci, člana 55. Statuta Univerziteta u Banjoj Luci, i člana 18. Statuta Medicinskog fakulteta Univerziteta u Banjoj Luci, Naučno-nastavno vijeće Medicinskog fakulteta Univerziteta u Banjoj Luci, na III redovnoj sjednici održanoj 11.11.2022.godine, donijelo je odluku broj 18/3.904/2022 o imenovanju Komisije za ocjenu urađene doktorske disertacije Biljane Zlojutro, doktora medicine, pod nazivom „Analiza parametara koagulacione kaskade kod kritično oboljelih od COVID-19” i javnu odbranu, u sastavu:

1. Prof. dr Ranko Škrbić, redovni profesor, uža naučna oblast Farmakologija, klinička farmakologija i toksikologija, Medicinski fakultet Univerziteta u Banjoj Luci, predsjednik;
2. Prof. dr Jovan Matijašević, vanredni profesor, uža naučna oblast Interna medicina, intenzivna medicina, Medicinski fakultet univerziteta u Novom Sadu, član;
3. Doc. dr Saša Dragić, docent, uža naučna oblast Interna medicina, intenzivna medicina, Medicinski fakultet Univerziteta u Banjoj luci, član.

II ПОДАЦИ О КАНДИДАТУ

Biljana (Branko) Zlojutro

Rođena 30.07.1981. godine, Gradiška, Republika Srpska, Bosna i Hercegovina

2018. godine upisan III ciklus studija, studijski program Biomedicinske nauke, Medicinski fakultet Univerziteta u Banjoj Luci

III УВОДНИ ДИО ОЦЈЕНЕ ДОКТОРСКЕ ДИСЕРТАЦИЈЕ

Naslov doktorske disertacije dr Biljane Zlojutro je „Analiza parametara koagulacione kaskade kod kritično oboljelih od COVID-19”.

Tema doktorske disertacije je prihvaćena od strane naučno-nastavnog vijeća Medicinskog fakulteta Univerziteta u Banjoj Luci Odlukom broj 18/3.232/2021 od 12.04.2021. godine, a Senat Univerziteta u Banjoj Luci je Odlukom broj 02/04-3.977-42/21 od 29.04.2021. godine dao saglasnost na Izvještaj o ocjeni podobnosti teme, kandidata i mentora za izradu doktorske disertacije na Medicinskom fakultetu Univerziteta u Banjoj Luci kandidata dr Biljane Zlojutro pod nazivom je „Analiza parametara koagulacione kaskade kod kritično oboljelih od COVID-19”.

Doktorska disertacija kandidata dr Biljane Zlojutro je napisana latiničnim pismom *Times New Roman* veličine fonta 12, s proredom 1,5, na 171 stranici, formata A4. Na početku disertacije se nalazi 8 strana koje nisu numerisane a odnose se na naslovnu stranu doktorske disertacije na srpskom i engleskom jeziku, rezime na srpskom i engleskom jeziku kao i sadržaj. Iza doktorske disertacije su 4 strane, i to:

- Biografija kandidata
- Potpisana izjava o autorstvu
- Potpisana izjava kojom se ovlašćuje Univerzitet u Banjoj Luci da se doktorska disertacija učini javno dostupnom
- Potpisana izjava o identičnosti štampane i elektronske verzije doktorske disertacije.

Disertacija sadrži 51 tabelu i 30 slika, a citirano je 317 literaturnih izvora.

Urađena doktorska disertacija je podijeljena u 8 poglavlja, i to su:

1. Uvod, napisan na 44 strane;
2. Cilj istraživanja, napisan na jednoj strani
3. Hipoteze istraživanja, napisane na jednoj stranici
4. Materijal i metode rada, napisano na 6 strana
5. Rezultati istraživanja, napisani na 70 strana
6. Diskusija, napisana na 13 strana
7. Zaključak, napisan na 1 strani
8. Literatura, navedena na 25 strana

IV УВОД И ПРЕГЛЕД ЛИТЕРАТУРЕ

U uvodnom dijelu disertacije detaljno je opisana fiziologija koagulacione kaskade sa svim njenim komponentama te klinička primjena testova koagulacije. Takođe je prikazana i epidemiologija te patofiziologija COVID-19 infekcije sa posebno značajnim osvrtom na razvoj koagulopatije kod pacijenata oboljelih od COVID-19.

U drugom poglavlju jasno i precizno su formulisani ciljevi istraživanja.

Primarni cilj je bio:

- Utvrditi postojanje poremećaja koagulacione kaskade u okviru endotelne disfunkcije kod kritično oboljelih od COVID-19 i njegovu korelaciju s krajnjim ishodom liječenja.

Dopunski ciljevi su bili:

- Utvrditi koji posmatrani biomarkeri zapaljenja i koagulacione kaskade ili njihove kombinacije mogu biti prediktori kliničkog kursa bolesti
- Pokazati koji posmatrani biomarkeri zapaljenja i koagulacione kaskade koreliraju sa razvojem multiorganske disfunkcije
- Pokazati da li su posmatrani parametri viskoelastičnog eseja (ROTEM) bolji pokazatelji imunotromboze kod COVID-19 u odnosu na standardne testove koagulacije

Kratak pregled prethodnih istraživanja i literature

Novi korona virus koji uzrokuje oboljenje poznato pod nazivom COVID – 19, uveo je svijet u eru globalne pandemije koja predstavlja ozbiljnu prijetnju humanoj populaciji i globalnom javnom zdravlju. Brzo širenje ovog oboljenja, do novembra 2021. godine, imalo je za rezultat više od 247 500 000 potvrđenih slučajeva globalno i više od 5 miliona smrtnih ishoda, što je pogodilo više od 200 zemalja širom svijeta (1). Veliki je broj nedoumica, i još uvijek ograničen broj informacija s kojim raspolažemo kada je ovaj virus u pitanju. Kompletan proces liječenja, ovog veoma teškog, sistemskog oboljenja, je simptomatski, a ne kauzalan, zasnovan na preporukama a ne na dokazima koji su kamen temeljac savremene medicine (2).

Iako su, do sada, kliničke i laboratorijske karakteristike ovog oboljenja uglavnom opisane i poznate patofiziološki mehanizmi koji generišu samo oboljenje, težinu njegove kliničke slike i način progresije još uvijek su ostali nejasni i nedovoljno dobro razjašnjeni. Ključni patofiziološki mehanizam koji je uzrok naglog pogoršanja kliničkog stanja i progresije od blage prema teškoj kliničkoj formi bolesti, još uvijek nije poznat i jasan što zahtijeva intenzivna dalja istraživanja sa ciljem usmjeravanja terapijskog pristupa. Prema izvještaju Kineskog centra za prevenciju i kontrolu bolesti većina potvrđenih slučajeva infekcije novim korona virusom ima blagu kliničku sliku (81%), 14% progredira do teške pneumonije koja zahtjeva neki vid kiseonične suplementacije, dok 5% razvije teški klinički oblik bolesti koji zahtjeva hospitalizaciju u jedinici intenzivne njege sa progresijom do akutnog respiratornog distres sindroma (ARDS), sepse i multiorganske disfunkcije (MODS) (3). Kod pacijenata koji su kritično oboljeli osim ARDS –a, sepse i MODS –a značajna je i povećana učestalost tromboembolijskih komplikacija, kao što su duboka venska tromboza ili plućna tromboembolija (4). Karakteristični laboratorijski nalazi podrazumjevaju limfopeniju, visoke vrijednosti C reaktivnog proteina (CRP) i laktat dehidrogenaze (LDH), feritina, interleukina 6 (IL6), fibrinogena, D – dimera i primjećeno je postojanje direktne korelacije ovih parametara sa povećanjem stope smrtnosti (3).

Virus u humanu ćeliju ulazi uz pomoć proteina iz porodice serin - proteaza, putem ranije pomenutih ACE2 receptora i to primarno koristeći ćelije respiratornog sistema. Važno je napomenuti da je agresivnost novog korona virusa daleko veća u odnosu na njegove prethodnike, barem djelimično zbog 10 do 20 puta većeg afiniteta vezivanja za ACE2 receptor (5). Patofiziološki mehanizam infekcije SARS – CoV – 2 virusom prolazi kroz

nekoliko faza. Pravovremeni, lokalizovan, dobro koordinisan i uravnotežen imuni odgovor predstavlja prvu liniju fiziološke odbrane od ovog virusa. Prirodne ili anatomske barijere među kojima je ključna mukozna barijera koja pokriva unutrašnjost usta i nosa, predstavlja prvu liniju odbrane i sastavni je dio urođenog imuniteta koji nije specifičan za neki antigen. Nakon sloma prve linije odbrane aktivira se sledeća faza urođenog imuniteta koju započinju ćelije poput leukocita (neutrofilni granulociti) te makrofagi, na koje se nadovezuju različiti proinflamatorni faktori kao što su interleukin 8 (IL8), interleukin 1 (IL1), tumor nekrozis faktor alfa (TNF α), kao i aktivacija sistema komplementa (6). Aktivacijom T limfocita imunološki sistem ulazi u drugu liniju odbrane, koja obuhvata aktivaciju tzv. pomagačkih T limfocita (CD4+), koji nakon što im je prezentovan virus iniciraju niz procesa poput transformacije B limfocita u ćelije koje će proizvoditi antitijela ili aktiviraju citotoksične T limfocite (CD8+) koji su sposobni da unište virus (7). Proces imunološki posredovanog oštećenja pluća započinje na nivou epitel-intersticijum-endotel, nakupljanjem neutrofila i makrofaga šta za krajnji rezultat ima redukciju alveolarnog surfaktanta i kolaps alveola čime se smanjuje potentnost alveolarne gasne razmjene. Ovako nastalo oštećenje pneumocita i stvaranje inficiranog ćelijskog debrisa dalje stimuliše oslobađanje proinflamatornih citokina kao što su IL -1, TNF α , IL -6 čime se dodatno potencira proinflamacija i generisanje citokinske bure uz istovremenu vazodilataciju i povećanu kapilarnu permeabilnost. Na ovaj način dolazi do retencije tečnosti u alveolama i formiranja alveolarnog edema (8). Druga faza bolesti nastaje kao posledica nekontrolisane replikacije virusa što ima za posledicu direktnu citotoksičnost a nastaje nakon aktivacije ACE2 receptora. Na ovaj način nastaje začarani krug imunološke aktivacije sa posledičnim pogoršanjem prethodno generisanog hiperinflamatornog stanja. Veoma važno ciljno mjesto dejstva virusa su endotelne ćelije koje takođe eksprimiraju ACE2 receptore, a endotel uzima jednu od glavnih uloga u kompletnom patofiziološkom procesu generisanja COVID -19, kao najveći organ u ljudskom organizmu. Obzirom da endotelne ćelije imaju glavnu ulogu u regulisanju nekoliko ključnih fizioloških procesa (upravljanje imunološkim procesima, zapaljenskim procesima), jasno je da disfunkcija endotela može dovesti do ozbiljnog sistemskog oštećenja sa posledičnim poremećajem koagulacije i negativnim efektom na funkciju svih vitalnih organa (pluća, srce, bubrezi) (9). Poremećaji koagulacije su često prisutni kod pacijenta sa teškom kliničkom formom bolesti i lošom prognozom (10).

Patofiziologija poremećaja koagulacije u okviru COVID - 19 posljedica je široke lepeze komplikovanih interakcija između proinflamatornih citokina, hiperaktivacije trombocita i oštećenja endotelne ćelije. Virusna infekcija, dovodi do oslobađanja proinflamatornih citokina. Nakon aktivacije zapaljenskog procesa i pojačanog imunog odgovora dolazi do aktivacije trombocita i redukcije aktivnosti prirodnih antikoagulantnih mehanizama (11). S druge strane, endotelna disfunkcija je još jedan, tj. treći faktor rizika za razvoj COVID - 19 koagulopatije. Istraživanja su pokazala da je osnovni patogenetski mehanizam poremećaja koagulacije kod pacijenata inficiranih korona virusom ustvari posredovan endotelnom disfunkcijom i gubitkom antiinflatorne i antikoagulantne aktivnosti koju neoštećeni endotel posjeduje. Inflatorno oštećenje endotelne ćelije da li zbog direktne invazije korona virusom, ili posredovano različitim proinflamatornim citokinima dovodi do generisanja prokoagulantnog stanja (12). Virusna infekcija, aktivacijom mehanizama

urođene imunosti dovodi do oslobađanja proinflamatornih citokina. Visoki nivo upalnih citokina koji je prisutan u sistemskej cirkulaciji, aktivira makrofage i druge leukocite, koji dalje nastavljaju začarani krug regrutovanja zapaljenskih ćelija, posebno u plućima (13). Zauzvrat, infiltrisani makrofagi i polimorfonukleari (PMNs) proizvode još viši nivo inflamatornih citokina i hemokina, što u konačnici dovodi do hiperinflamacije i citokinske oluje (14). Zbog direktnog citopatskog efekta ovog virusana CD4+ T limfocite, a imajući u vidu njihovu kritičnu ulogu u regulaciji ravnoteže upalnog odgovora, jasno je da smanjenje njihovog broja, zbog direktnog dejstva i redukcije stvaranja IFN γ , nesumnjivo utiče na generisanje hiperinflamatornog stanja (15). Jasno je utvrđeno postojanje korelacije između hiperinflamatornog stanja i aktivacije puteva koagulacije ali priroda i mehanizam ove interakcije još uvijek nisu dovoljno dobro razjašnjeni. Ekspresija tkivnog faktora, kao primarnog inicijatora koagulacione kaskade je snažno stimulisana dejstvom upalnih citokina koji su ekspimirani na površini endotelnih ćelija i leukocita, što značajno doprinosi generisanju hiperkoagulabilnog stanja (16). Takođe, stimulisani dejstvom inflamatornih citokina, neutrofilni kao veoma važna komponenta urođenog imunog odgovora formiraju i tzv. ekstracelularne zamke (engl. NETs) od histonskih kompleksa i citoplazmatskih proteina sa ciljem hvatanja patogena i njihove degradacije. Primarna svrha formiranja ovih struktura jeste ograničavanje infekcije ali oni takođe mogu igrati veoma značajnu ulogu u formiranju mikrotromboza. Ove mikrotromboze nastaju kao posledica adhezije eritrocita i trombocita na površinu ovih struktura kao te vezivanjem različitih efektorih proteina i faktora koagulacije (17). Aktivacija sistema komplementa je veoma važna karika urođenog imunog odgovora koja pomaže u neutralizaciji virusa. Osim ovog pozitivnog efekta neutralizacije virusa aktivacija komponenti sistema komplementa dovodi i do aktivacije različitih prokoagulantnih mehanizama kao što su aktivacija trombocita, aktivacija endotelnih ćelija i ekspresija tkivnog faktora, pojačana ekspresija P- selektina i vWF, takođe aktivira trombin i inhibitore fibrinolize. Iz svega navedenog jasno je da infekcija novim korona virusom ima veliki potencijal da izazove inflamatorni odgovor posredovan aktivacijom sistema komplementa uz oštećenje endotela i posljedičnu trombozu (18). Kao što je prethodno pomenuto, oštećenje endotela igra jednu od ključnih uloga u patogenezi poremećaja koagulacije u okviru COVID – 19. Nakon direktnog, ili indirektnog oštećenja endotelnih ćelija, posredovanog novim korona virusom, a u prisustvu inflamatornih citokina, dolazi do pojačane ekspresije TF čime se indukuje aktivacija koagulacione kaskade i hiperkoagulabilno stanje (19). Osim toga, aktivacija endotelnih ćelija dejstvom proinflamatornih citokina, hipoksije, komponenti sistema komplementa, neutrofila, ima za posljedicu ekspresiju VwF i P – selektina čime se aktivira proces aktivacije i agregacije trombocita (20). Obzirom na veoma važnu ulogu endotela u regulaciji fibrinolize, endotelna disfunkcija može djelovati kao okidač imunotromboze, što takođe može dati doprinos u stvaranju hiperkoagulabilnog stanja (9). Osim inaktivacije fibrinolize, opisan je i mogući značajan uticaj endotelne disfunkcije na pojačanu potrošnju antitrombina, nishodnu regulaciju proteina puta antikoagulantne aktivnosti proteina C (20). Osim toga, uočeno je i postojanje smanjene fibrinolize, hipofibrinoliza, zbog povećanog nivoa fibrinolitikog inhibitora, plazminogen aktivator – inhibitor 1 (PAI 1), glavnog inhibitora fibrinolize, kod pacijenata kod kojih se razvije COVID - 19 ARDS (21). Poremećaj aktivnosti RAAS sistema (*The Renin – Angiotensin – Aldosteron System*), takođe je opisan kao mogući mehanizam aktivacije koagulacione

kaskade i generisanja mikrotromboze kod COVID – 19 (22). ACE2 se funkcionalno suprotstavlja fiziološkoj ulozi ACE, a eventualni efekat aktivacije RAAS sistema zavisi od ravnoteže ACE2/ACE receptora u datom tkivu i dostupnosti specifičnih aktivirajućih peptida. Sve upućuje na evidentan uticaj na ravnotežu između proinflatornih i antiinflatornih efekata (23). Osim prethodno navedenog ACE2 takođe orkestrira metabolizam bradikinina u plućima što ima za posledicu inhibiciju vazodilatacije i povećanje vaskularne permeabilnosti (23). Pretpostavlja se da svi prethodno navedeni mehanizmi mogu igrati značajnu ulogu u generisanju poremećaja koagulacije kod COVID – 19. Hipoksemija koja nastaje kao posledica oštećenja pluća, koja su primarno mjesto dejstva ovog virusa, dovodi do vazokonstrikcije sa posledičnim hiperviskoznim stanjem krvi (24). Šta više hipoksija može uticati na izmjenu endotela u smislu pomjeranja njegove aktivnosti prema proinflatornom i protrombotičkom djelovanju (25).

Dakle, generalno posmatrano COVID – 19 infekcija se može okarakterisati kao stanje hiperinflamacije i sistemske hiperkoagulabilnosti koja ima za posledicu visoku tendenciju generisanja arterijske i venske kao i mikrovaskularne tromboze. Rizik za pojavu tromboembolijskih komplikacija veći je kod hospitalizovanih pacijenata i onih sa kritičnim formama bolesti koje zahtijevaju hospitalizaciju u jedinicama intenzivne njege.

Pretragom PubMed baze podataka uz upotrebu ključnih riječi "*coronavirus*", "*COVID - 19*", "*coagulopathy*", "*ROTEM*" zaključuje se da se kod pacijenata sa dokazanom infekcijom korona virusom generiše poremećaj koagulacije koji je udružen sa lošom prognozom i visokom stopom mortaliteta. Broj istraživanja poremećaja koagulacije kod COVID pozitivnih pacijenata korištenjem *point of care*-uz bolesničku postelju, globalnog testa koagulacije, ROTEM-rotaciona tromboelastografija, te njegovog značaja je veoma mali. Iz detaljnog istraživanja do sada objavljenih studija koje se bave ovim problemom naša bi studija bila prva prospektivna koja poremećaj koagulacije kod pacijenata oboljelih od COVID-19 eksploriše uporednom analizom rezultata konvencionalnog i *point of care* testa koagulacije te evaluiira njihov prognostički te mogući terapijski značaj sa ciljem optimalizacije antikoagulantne terapije u jedinicama intenzivne terapije nehirurškog tipa. Do sada primjenjivani standardni koagulacijski testovi loše reflektuju *in vivo* hemostazu i mijenjaju se tek kada deficit faktora koagulacije bude veći od 50% (26). Kako se rade iz uzorka plazme a ne pune krvi ne daju nam informaciju o međusobnoj interakciji faktora koagulacije sa trombocitima, vaskularnim endotelom ili ćelijama krvi, ne mjere uticaj hipotermije na poremećaj hemostaze niti daju podatke o stanju hemostaze u realnom vremenu što je od izuzetnog značaja za kritično oboljele pacijente koji se liječe u jedinici intenzivne terapije (27). ROTEM omogućava globalno mjerenje procesa stvaranja ugruška te njegove razgradnje u stvarnom vremenu. Nadopunjuje sve nedostatke standardnih testova jer omogućava brzo dobijanje rezultata, pravilnu informaciju o dinamici stvaranja, stabilizaciji i razgradnji ugruška, odražavajući *in vivo* hemostazu uz bolesničku postelju, *point of care* (28,29). Generalno, istraživanja o primjeni ROTEM-a, u jedinicama intenzivne njege nehirurškog tipa, njegovog prediktivnog i terapijskog značaja su malobrojna. Mogući najveći potencijal ove dijagnostičke metode je kod kritično oboljelih pacijenata sa naglim pogoršanjem gdje je neophodna promptna terapijska odluka, kod pacijenata kod kojih se na osnovu standardnog testa ne može donijeti validan zaključak te za brzo praćenje trenda promjena tokom vremena (3,4).

Veliki broj do sada provedenih studija koje su pratile kritično oboljele pacijente od COVID – 19 utvrdile su postojanje prokoagulantnog stanja sa učestalom pojavom tromboembolijskih komplikacija, venskih i arterijskih, kao što su duboka venska tromboza, plućna tromboembolija, akutni koronarni incident i sl., *Tang N.* i saradnici, *Rohas* i saradnici, *Di Micco* (30,31,32). Ovakve tromboembolijske komplikacije javljale su se i kod pacijenata koji su tretirani terapijskim dozama nefrakcionisanog ili niskomolekularnog heparina (25). Nedavno sprovedena meta analiza, *Pergola* i saradnici takođe je potvrdila visku učestalost tromboembolijskih komplikacija kod kritično oboljelih pacijenata od COVID – 19 i to prvenstveno plućne tromboembolije i duboke venske tromboze (33). *Xiong M* i saradnici takođe su u svojoj meta analizi ukazali na visoku učestalost pojave tromboembolijskih komplikacija (4). Učestalost pojave ovih komplikacija kod kritično oboljelih pacijenata kretala se i do 60% (33).

Rezultati dosadašnjih ispitivanja nedvosmisleno ukazuju da je oboljenje COVID – 19 udruženo sa generisanjem hiperkoagulabilnog stanja, prvenstveno kod pacijenata koji razvijaju kritične forme bolesti. U ovim studijama kao naročito relevantno ističu se povišene vrijednosti za D – dimer i proizvode degradacije fibrina, što je statistički značajno koreliralo sa krajnjim ishodom, odnosno ovakav nalaz posebno je čest kod pacijenata koji nisu preživjeli (31). Istraživanje kohorte COVID – 19 pacijenata u Italiji koju su proveli *Pierpalo* i saradnici posebno je naglasila povišene vrijednosti fibrinogena udružene sa lošim krajnjim ishodom. Indikativno je da u drugim virusnim oboljenjima vrijednosti fibrinogena nisu povećane u ranoj fazi bolesti (30). Na osnovu ovih saznanja zaključuje se da bi praćenje faktora koagulacionog statusa čak i u ranoj fazi oboljenja pomoglo kliničarima u predviđanju kliničkog toka bolesti i usmjeravanju terapijskog pristupa.

Potrebno je naglasiti da je u dosadašnjim literaturnim podacima prisutan mali broj studija koje su pratile sve faktore koagulacije, a nisu pronađene studije koje su pratile njihovu dinamiku tokom vremena.

U studiji *Rohas* – a i saradnika (34) praćen je faktor koagulacije II te je pokazano da je vrijednost ovog faktora značajno manja u grupi umrlih bolesnika, te je pokazana jasna veza sa mortalitetom i mogući prediktivni značaj ovog faktora koagulacije.

Studija koju su proveli *Stefely* i saradnici bilježi vrijednosti faktora V koagulacione kaskade koje su iznad referentnih granica, tj. značajno su povišene, sa kasnijim smanjenjem njegove vrijednosti i korelaciju sa lošim krajnjim ishodom (35).

U studiji *Rohas* – a i saradnika takođe je posmatran faktor X koagulacione kaskade te je pokazano da je u grupi bolesnika sa lošim krajnjim ishodom imao značajno nižu vrijednost u odnosu na grupu preživjelih (34).

Studija koju su proveli *Ceballos* i saradnici pokazano je da faktor koagulacije XI ima značajno snižene vrijednosti, te su nedvosmisleno ukazali da pacijenti kod kojih je utvrđeno postojanje sniženih vrijednosti za faktore koagulacione kaskade XI, XII i XIII imaju povećani rizik od razvoja teške kliničke forme bolesti i s tim u vezi lošeg krajnjeg ishoda (36). Ovakav nalaz za faktor XIII, kao faktor stabilizacije fibrina, ukazuje na

postojanje značajne potrošne koagulopatije i njenu vezu sa nalazom visoke vrijednosti fibrinogena.

Gerotziafas i saradnici su u svojoj studiji pokazali da kod kritično oboljelih pacijenata od COVID – 19 vrijednosti proteina C su značajno manje u odnosu na pacijente sa lakšim kliničkim formama koji su liječeni na regularnim odjeljenjima (37).

Kada su u pitanju studije koje su posmatrale parametre ROTEM analize kod kritično oboljelih COVID-19 pacijenata, broj ovih istraživanja takođe je dosta ograničen, prvenstveno kada je u pitanju posmatranje parametara ove analize tokom vremena.

Studija *Kruse* – a i saradnika ukazala je na visoku vrijednost parametra INTEM-MCF, što nas upućuje na značajnu stabilnost formiranog ugruška, bez obzira na administraciju terapijskih ili visokih profilaktičkih doza niskomolekularnog ili nefrakcionisanog heparina (38).

Istraživanja *Iwasakija* i saradnika kao i grupe *Pavoni* i saradnici (39,40), praćenje vrijednosti parametra CT ukazala su na neefikasnost primjene heparina, čak i u terapijskim dozama te posledično održavanje prokoagulatnog stanja.

Bez obzira na prethodno navedeno, značajno je istaći da generisano stanje hiperkoagulabilnosti sa vremenom počinje da opada što je takođe pokazala i grupa *Pavone* i saradnici (39).

Literatura:

1. Lu R, Zhao X, Li J, Niu P, Yang B, Wu H, et al. Genomic characterisation and epidemiology of 2019 novel coronavirus: implications for virus origins and receptor binding. *Lancet*. 2020;395(10224):565–74.
2. Jin Y, Yang H, Ji W, Wu W, Chen S, Zhang W, et al. Virology, epidemiology, pathogenesis, and control of COVID-19. *Viruses*. 2020;12(4):372.
3. Wu Z, McGoogan JM. Characteristics of and important lessons from the Coronavirus disease 2019 (COVID-19) outbreak in China: Summary of a report of 72 314 cases from the Chinese center for disease control and prevention: Summary of a report of 72 314 cases from the Chinese center for disease control and prevention. *JAMA*. 2020;323(13):1239–42.
4. Xiong M, Liang X, Wei Y. Changes in blood coagulation in patients with severe coronavirus disease 2019 (COVID-19): a meta-analysis. *Br J Haematol*. 2020;189(6):1050–2.
5. Walls AC, Park Y-J, Tortorici MA, Wall A, McGuire AT, Veelsler D. Structure, function, and antigenicity of the SARS-CoV-2 spike glycoprotein. *Cell*. 2020;181(2):281-292.e6.
6. Tay MZ, Poh CM, Rénia L, MacAry PA, Ng LFP. The trinity of COVID-19: immunity, inflammation and intervention. *Nat Rev Immunol*. 2020;20(6):363–74.
7. Chowdhury MA, Hossain N, Kashem MA, Shahid MA, Alam A. Immune response

- in COVID-19: A review. *J Infect Public Health*. 2020;13(11):1619–29.
8. Sweeney RM, McAuley DF. Acute respiratory distress syndrome. *Lancet*. 2016;388(10058):2416–30.
 9. Varga Z, Flammer AJ, Steiger P, Haberecker M, Andermatt R, Zinkernagel AS, et al. Endothelial cell infection and endotheliitis in COVID-19. *Lancet*. 2020;395(10234):1417–8.
 10. Al-Ani F, Chehade S, Lazo-Langner A. Thrombosis risk associated with COVID-19 infection. A scoping review. *Thromb Res*. 2020;192:152–60.
 11. Esmon CT. The interactions between inflammation and coagulation. *Br J Haematol*. 2005;131(4):417–30.
 12. Becker RC. COVID-19 update: Covid-19-associated coagulopathy. *J Thromb Thrombolysis*. 2020;50(1):54–67.
 13. Liu Y, Yang Y, Zhang C, Huang F, Wang F, Yuan J, et al. Clinical and biochemical indexes from 2019-nCoV infected patients linked to viral loads and lung injury. *Sci China Life Sci*. 2020;63(3):364–74.
 14. Channappanavar R, Fehr AR, Vijay R, Mack M, Zhao J, Meyerholz DK, et al. Dysregulated type I interferon and inflammatory monocyte-macrophage responses cause lethal pneumonia in SARS-CoV-infected mice. *Cell Host Microbe*. 2016;19(2):181–93.
 15. Chen J, Lau YF, Lamirande EW, Paddock CD, Bartlett JH, Zaki SR, et al. Cellular immune responses to severe acute respiratory syndrome coronavirus (SARS-CoV) infection in senescent BALB/c mice: CD4⁺ T cells are important in control of SARS-CoV infection. *J Virol*. 2010;84(3):1289–301.
 16. Witkowski M, Landmesser U, Rauch U. Tissue factor as a link between inflammation and coagulation. *Trends Cardiovasc Med*. 2016;26(4):297–303
 17. Haemostasis and innate immunity—A complementary relationship: A review of the intricate relationship between coagulation and complement pathways. *British Journal of Haematology*. 2018;180:782–798.
 18. Chouaki Benmansour N, Carvelli J, Vivier E. Complement cascade in severe forms of COVID-19: Recent advances in therapy. *Eur J Immunol*. 2021;51(7):1652–9.
 19. The COVID-19 epidemic. Velavan TP, Meyer CGTrop Med Int Health. Vol. 25. 2020.
 20. Levi M, Poll T van der. Coagulation in patients with severe sepsis. *Semin Thromb Hemost*. 2015;41(1):9–15.
 21. Whyte CS, Morrow GB, Mitchell JL, Chowdary P, Mutch NJ. Fibrinolytic abnormalities in acute respiratory distress syndrome (ARDS) and versatility of thrombolytic drugs to treat COVID-19. *J Thromb Haemost*. 2020;18(7):1548–55.
 22. Zhang H, Baker A. Recombinant human ACE2: acing out angiotensin II in ARDS therapy. *Crit Care* [Internet]. 2017;21(1). Available from: <http://dx.doi.org/10.1186/s13054-017-1882-z>
 23. Hamming I, Timens W, Bulthuis MLC, Lely AT, Navis GJ, van Goor H. Tissue distribution of ACE2 protein, the functional receptor for SARS coronavirus. A first step in understanding SARS pathogenesis. *J Pathol*. 2004;203(2):631–7.
 24. Gupta N, Zhao Y-Y, Evans CE. The stimulation of thrombosis by hypoxia. *Thromb Res*. 2019;181:77–83.

25. Joly BS, Siguret V, Veyradier A. Understanding pathophysiology of hemostasis disorders in critically ill patients with COVID-19. *Intensive Care Med.* 2020;46(8):1603–6.
26. Walters K, Wake E, Campbell D, Wullschlegler M, Chalasani A, Ho D, et al. Critical evaluation of a targeted point of care ROTEM guided coagulation and haemostasis management programme in severe trauma. *Aust Crit Care.* 2018;31(2):116.
27. Van Cott EM. Point-of-care testing in coagulation. *Clin Lab Med.* 2009;29(3):543–53.
28. Thomas W, Samama C, Greinacher A, Hunt B. The utility of viscoelastic methods in the prevention and treatment of bleeding and hospital-associated venous thromboembolism in perioperative care: guidance from the SSC of the ISTH. *Journal of Thrombosis and Haemostasis.* 2018;16(11):2336-2340.
29. Klok FA, Kruip MJHA, van der Meer NJM, Arbous MS, Gommers DAMPJ, Kant KM, et al. Incidence of thrombotic complications in critically ill ICU patients with COVID-19. *Thromb Res.* 2020;191:145–7.
30. Di Micco B, Metafora S, Colonna G, Carteni M, Ragone R, Macalello MA, et al. Porins from *Salmonella typhimurium* accelerate human blood coagulation in vitro by selective stimulation of thrombin activity: implications in septic shock DIC pathogenesis. *J Endotoxin Res*[Internet]. 2001;7(3):211–7. Available from: <http://dx.doi.org/10.1177/09680519010070030301>
31. Tang N, Li D, Wang X, Sun Z. Abnormal coagulation parameters are associated with poor prognosis in patients with novel coronavirus pneumonia. *J Thromb Haemost* [Internet]. 2020;18(4):844–7. Available from: <http://dx.doi.org/10.1111/jth.14768>
32. Martín-Rojas RM, Pérez-Rus G, Delgado-Pinos VE, Domingo-González A, Regalado-Artamendi I, Alba-Urdiales N, et al. COVID-19 coagulopathy: An in-depth analysis of the coagulation system. *Eur J Haematol* [Internet]. 2020;105(6):741–50. Available from: <http://dx.doi.org/10.1111/ejh.13501>
33. Pergola V, Ocagli H, Lorenzoni G, Azzolina D, Leoni L, Mancuso D, et al. Prevalence of thromboembolic complications in COVID-19 infection: A systematic review and meta-analysis. *European Medical Journal* [Internet]. 2021;70–80. Available from: <http://dx.doi.org/10.33590/emj/20-00237>
34. Martín-Rojas RM, Pérez-Rus G, Delgado-Pinos VE, Domingo-González A, Regalado-Artamendi I, Alba-Urdiales N, et al. COVID-19 coagulopathy: An in-depth analysis of the coagulation system. *Eur J Haematol* [Internet]. 2020;105(6):741–50. Available from: <http://dx.doi.org/10.1111/ejh.13501>
35. Stefely JA, Christensen BB, Gogakos T, Cone Sullivan JK, Montgomery GG, Barranco JP, et al. Marked factor V activity elevation in severe COVID-19 is associated with venous thromboembolism. *Am J Hematol* [Internet]. 2020;95(12):1522–30. Available from: <http://dx.doi.org/10.1002/ajh.25979>
36. Are Reduced Levels of Coagulation Proteins Upon Admission Linked to COVID-19 Severity and Mortality? Francisco C. Ceballos.
37. Gerotziafas GT, Sergeantanis TN, Voiriot G, Lassel L, Papageorgiou C, Elabbadi A, et al. Derivation and validation of a predictive score for disease worsening in patients with COVID-19. *Thromb Haemost* [Internet]. 2020;120(12):1680–90. Available from: <http://dx.doi.org/10.1055/s-0040-1716544>

38. Kruse JM, Magomedov A, Kurreck A, Münch FH, Koerner R, Kamhieh-Milz J, et al. Thromboembolic complications in critically ill COVID-19 patients are associated with impaired fibrinolysis. Crit Care [Internet]. 2020;24(1):676. Available from: <http://dx.doi.org/10.1186/s13054-020-03401-8>
39. Iwasaki Y, Shiga T, Konno D, Saito K, Aoyagi T, Oshima K, et al. Screening of COVID-19-associated hypercoagulopathy using rotational thromboelastometry. J Clin Anesth [Internet]. 2020;67(109976):109976. Available from: <http://dx.doi.org/10.1016/j.jclinane.2020.109976>
40. Pavoni V, Giancesello L, Pazzi M, Stera C, Meconi T, Frigieri FC. Evaluation of coagulation function by rotation thromboelastometry in critically ill patients with severe COVID-19 pneumonia. J Thromb Thrombolysis [Internet]. 2020;50(2):281–6. Available from: <http://dx.doi.org/10.1007/s11239-020-02130-7>

V MATERIJAL I METOD RADA

Studija je prospektivna, opservaciona studija sa sekvencionalnim ponavljanim mjerenjima. Istraživanje je sprovedeno kod kritično oboljelih, respiratorno insuficijentnih bolesnika oba pola, oboljelih od COVID-19 pneumonije sa akutnim respiratornim distres sindromom (ARDS) a koji se liječe u Klinici intenzivne medicine za nehirurške grane Univerzitetskog kliničkog centra Republike Srpske u skladu s važećim dijagnostičkim i terapijskim protokolom za bolesnike oboljele od infekcije virusom korona. Istraživanje je sprovedeno u periodu od septembra 2020. do septembra 2021. godine.

Prije početka sprovođenja studije pribavljena je saglasnost Etičkog komiteta UKC RS Banja Luka te Etičkog odbora za istraživanja na ljudima i biološkom materijalu Medicinskog fakulteta Univerziteta u Banjoj Luci.

Kada su bili zadovoljeni svi uključujući kriterijumi pacijentu/legalnom zatupniku je ponuđeno da učestvuje u studiji uz prethodno detaljno objašnjenje svih aspekata učešća u studiji. Kada je pribavljena pisana saglasnost za informisani pristanak pristupilo se uzorkovanju krvi.

4.1.1. Kriterijumi za uključenje su bili:

1. Ispitanici oba pola stariji od 18 godina
2. RT PCR SARS CoV - 2 dokazana infekcija iz uzorka faringealnog brisa ili bronhoalveolarnog lavata
3. Kritično oboljeli pacijenti od COVID-19, respiratorno insuficijentni, koji zahtjevaju mehaničku ventilaciju, invazivnu ili neinvazivnu

4.1.2. Kriterijumi za neuključenje su bili:

1. Trudnice i dojilje
2. Ispitanici mlađi od 18 godina
3. Respiratorna insuficijencija druge etiologije
4. Stanje septičnog šoka pri prijemu (srednji arterijski pritisak ili MAP (*Median Arterial Pressure*) < 65 mm Hg, laktat \geq 2 mmol/L, potrebna vazopresorna terapija)
5. Stanje sepse pri prijemu (klinički suspektna infekcija uz pozitivnu hemokulturu)
6. Koagulopatija druge etiologije (trombofilija, dokazana maligna bolest, bolesti jetre, operativni zahvat u poslednja 24h pred prijem)

4.1.3. Kriterijumi za isključenje su bili:

1. Letalni ishod prije navršenog sedmog dana hospitalizacije
2. Stanje septičnog šoka sedmog dana hospitalizacije (srednji arterijski pritisak ili MAP < 65 mm Hg, laktat \geq 2 mmol/L, potrebna vazopresorna terapija)
3. Stanje sepse sedmog dana hospitalizacije (klinički suspektna infekcija uz pozitivnu hemokulturu)

Metodologija

Ukoliko je pacijent ispunio kriterijume za uključenje u studiju, nakon protokolarnog zbrinjavanja kritično obljelog, respiratorno insuficijentnog pacijenta, u skladu sa važećim nacionalnim i internacionalnim protokolima, punkcijom periferne vene ili uzorkovanjem sa centralnog venskog katetera, uz poštovanje svih principa antiseptike, uzet je uzorak od ukupno 19,5 ml krvi, i to 4 ml venske krvi u spremnik sa citratom, za konvencionalno testiranje parametara koagulacije, tzv. Veliki koagulacioni status (faktor II, V, VII, VIII, IX, X, XI, XII, XIII, VWF, antitrombin, protein C, protein S, inhibitor faktora VIII, apTT, PT, D dimer, fibrinogen), uzorak od 3.5 ml venske krvi za "point of care" ROTEM analizu, uzorak od 9 ml krvi u spremnik s CAT klotaktivatorom za biohemijsku analizu (Fe, TIBC, UIBC, feritin, urea, kreatinin, bilU, bilD, AST, ALT, LDH, CK, TnT, CRP, prokalcitonin, C3 i C4 komponente sistema komplementa, IL6, vit D, vit B12, homocistein), uzorak od 3 ml krvi za hematološke pretrage (Er, Hgb, Le, PLT) u spremnik sa K2EDTA (plazma separatorom) i to prvi put pri prijemu pacijenta u intenzivnu i drugi put sedmog dana hospitalizacije u jedinici intenzivnog liječenja. Prilikom uzimanja uzorka poštovani su svi principi antiseptike.

Point of care tromboelastometrija je rađena na aparatu ROTEM SIGMA, *in vitro*, point of care uređaj (pored kreveta pacijenta), koji analizira viskoelastična svojstva koaguluma nativnog uzorka pune krvi sa aktivacijom koagulacione kaskade egzogenim stimulansom kaolinom. Princip je da se u *in vitro* uslovima, na neki način, simulira *in vivo* proces. Neophodno je naglasiti da je ROTEM globalni test koagulacije koji je bio rađen pacijentima koji su već prethodno dobili antikoagulantnu terapiju, visoku profilaktičku ili terapijsku dozu niskomolekularnog ili nefrakcionisanog heparina. Praćeni su sledeći

care“ globalni test koagulacije – CT (*clotting time*), CFT (*clot formation time*), Ax (*amplitude x minutes after CT*) - amplituda nakon 5 i 10 minuta), MCF (*maximum clot firmnes*), na prijemu i sedmog dana hospitalizacije u intenzivnoj

- Analiza rezultata biohemijskih testova, na prijemu i sedmog dana hospitalizacije u intenzivnoj (Fe, TIBC, UIBC, Feritin, urea, kreatinin, bilU, bilD, AST, ALT, LDH, CK, TnT, CRP, prokalcitonin, albumini, Ca, , IL6, vitD, vit B12, homocistein)
- Analiza hemograma (Er, Hgb, PLT, Le)
- prisustvo DVT-duboka venska tromboza (UZV procjenjena, kompresivni ultrazvuk) ili arterijska tromboza (verifikovana klinički i ultrazvučno, ishemijski moždani udar, ishemijska ekstremiteta) – na prijemu i sedmog dana hospitalizacije
- PTE-plućna tromboembolija, radiološki ili klinički verifikovana (EKG, klinička slika, UZV)
- Pojava krvarenja (da/ne)
- Akutni infarkt miokarda (klinička prezentacija uz porast kardiospecifičnih enzima)
- Akutna bubrežna lezija - AKI (da/ne)
- RRT – *renal replacement therapy* – dijaliza bubrega (da/ne)
- RRT te pojava koagulacije dijaliznog seta tokom prvih 24 sata dijaliznog tretmana (da/ne)
- Mehanička ventilacija (invazivna/neinvazivna)
- Broj dana mehaničke ventilacije (invazivna/neinvazivna)
- PEEP-pozitivni pritisak na kraju ekspirijuma (cijeli broj)
- FiO₂- inspiratorna frakcija kiseonika (cijeli broj)
- Potreba za ECMO podrškom (ekstrakorporalna membranska oksigenacija)- (da/ne)
- Koagulacija ECMO seta tokom prvih 24 sata tretmana (da/ne)
- Antikoagulantna terapija (visokaprofilaktičkadoza/terapijskadoza)
- Dužina hospitalizacije (broj dana)
- Dužina hospitalizacije u intenzivnoj (broj dana)
- Ishodk krajnji (preživio/umro)
- Ishod kod pacijenata sa AKI-akutna bubrežna insuficijencija (preživio/umro)

Statistička analiza

Svi neophodni podaci i rezultati mjerenja su uneseni u elektronske kartone, elektronska baza podataka, dizajnirane za potrebe studije. Za prikupljanje podataka korišten je klinički informacijski sistem te sva ostala neophodna i dostupna medicinska dokumentacija.

Statistička analiza je izvršena upotrebom deskriptivnih inferencijalnih statističkih metoda. Rezultati su prezentovani kao srednja vrijednost (mean) sastandardnom devijacijom i središnja vrijednost (medijana) uz interkvartilni opseg (IQR) za kontinuirane varijable, i kao apsolutni brojevi odnosno procenti za kategoričke varijable. Normalna raspodjela podataka je testirana Kolmogorov-Smirnov-ovim testom. Vrijednosti kontinuiranih varijabli su uspoređivane upotrebom Student-ovog t-testa, Mann-Whitney U testa i ANOVA testa, dok je usporedba kategoričkih varijabli vršena χ^2 testom ili Fisher-exact testom. U slučaju neravnomjerne distribucije podataka primjenjivan je neparametrijski Median test za testiranje nulte hipoteze. Da bi se procijenio efekat poremećaja koagulacije na mortalitet

sprovedena je multivarijantna regresiona analiza uzimajući u obzir težinu bolesti, uključujući starost, SAPS II skor, primjenu invazivne mehaničke ventilacije. Statistički značajna razlika procjenjivana je na minimalnom nivou $p < 0.05$. Dobijeni rezultati su prikazani tekstualno, tabelarno i grafički.

Veličina uzorka je određena upotrebom software-a G power (dostupno na internet stranici <https://stats.idre.ucla.edu/edu/other/gpower/>) za izračunavanje broja učesnika na osnovu statističkih analiza koje će se sprovoditi u analizi podataka dobijenih tokom istraživanja:

1. Korelacija point-biserial metodom za određivanje prediktivnosti parametra: neophodan uzorak za postizanje 0.95 (95%) power iznosi 110 ispitanika
2. Linearna multivarijantna regresiona analiza: neophodan uzorak za postizanje 0.95 (95%) power iznosi 74 ispitanika.

Analizirajući obrađeni materijal i opisane metode istraživanja, komisija konstatuje da su primjenjene metode istraživanja adekvatne, dovoljno tačne i savremene te da nije došlo do promjene u odnosu na plan istraživanja koji je dat prilikom prijave doktorske teze. Ispitivani parametri su obezbijedili dovoljno elemenata za pouzdano i adekvatno istraživanje i zaključivanje te su objektivno tumačeni. Statistička obrada podataka je bila adekvatna.

VI РЕЗУЛТАТИ И НАУЧНИ ДОПРИНОС ИСТРАЖИВАЊА

U petom poglavlju **РЕЗУЛТАТИ** (str. 52-120), su prikazani rezultati disertacije na 70 strana. Dobijeni rezultati su analizirani u šestom poglavlju **ДИСКУСИЈА** (str. 121-133), koje je jasno i pregledno napisano na 13 strana pri čemu su dobijeni rezultati istraživanja prikazani uporedno sa do sada dostupnim rezultatima prethodnih istraživanja iz ove oblasti.

Kratak pregled dobijenih rezultata istraživanja

Kako bi se što bolje utvrdio mogući prediktivni značaj pojedinih posmatranih parametra koagulacionog statusa ili ROTEM analize u vezi s mortalitetom ukupni uzorak posmatrane kohorte bolesnika podijeljen je u dvije grupe *preživjeli/umrli*, koje su posmatrane i analizirane prvog i sedmog dana hospitalizacije u jedinici intenzivnog liječenja.

Osnovne kliničke i demografske karakteristike

Pri posmatranju osnovnih kliničkih i demografskih karakteristika među definisanim grupama bolesnika statistički značajna razlike utvrđene su za godine starosti, pol, SOFA skor sedmog dana, pušenje, prisutnu akutnu bubrežnu insuficijenciju te primjenu metoda kontinuirane zamjene bubrežne funkcije, odnosno pokazalo se da su godine značajan nezavisan prediktor mortaliteta kao i muški pol. Praćenje dinamike SOFA skora takođe je potencijalni prediktor mortaliteta kao i razvijena akutna bubrežna insuficijencija i potreba za kontinuiranom zamjenom bubrežne funkcije. U ovom istraživanju, od ukupnog broja posmatranih pacijenata kod 25,3% ili 23 pacijenta evidentirana je pojava tromboembolijskog incidenta iako su pacijenti tretirani terapijskim ili visokim profilaktičkim dozama nefrakcionisanog ili niskomolekularnog heparina, ukoliko nije

postojala kontraindikacija. Nije bilo statistički značajne razlike među grupama preživjelih i umrlih. Krvarenje je kao komplikacija evidentirano kod 7 pacijenata ili 7,7%, a utvrđena je i statistički značajna razlika među posmatranim grupama preživjelih i umrlih. Neinvazivnom mehaničkom ventilacijom tretirano je 68,1% pacijenata kod kojih je registrovana visoka stopa smrtnosti

Laboratorijski/biohemijski parametri ispitanika

Za laboratorijske parametre u ovoj studiji, za grupe preživjeli/umrli na prijemu pacijenta u jedinicu intenzivnog liječenja statistički značajna razlika pronađena je za sledeće parametre: urea, bilirubin ukupni, AST, LDH, CRP, IL – 6 te zavrijednost laktata. Nađene statističke značajnosti ukazivale su na to da su pacijenti iz grupe umrlih imali povišene vrijednosti za ureu, ukupni bilirubin, AST, LDH, CRP, IL – 6 i laktat. Za iste parametre, za grupe preživjeli/umrli sedmog dana bolesti nađene su sledeće statističke značajnosti: kreatinin, bilirubin direktni, CRP, prokalcitonin, IL – 6, Ly, Hgb, vitamin D. Nađene statističke značajnosti ukazuju na to da su pacijenti iz grupe umrlih i sedmog dana hospitalizacije u jedinici intenzivnog liječenja, u odnosu na grupu preživjelih održavale povišene vrijednosti kreatinina, direktnog bilirubina, CRP-a i prokalcitonina, dok su vrijednosti limfocita, trombocita i vitamina D bile statistički značajno manje u grupi umrlih u odnosu na preživjele. Statistički značajna razlika među posmatranim grupama kada su u pitanju limfociti postoji sedmog dana, što nas jasno upućuje na zaključak da oporavak broja limfocita postoji u grupi preživjelih pacijenata te da održavanje limfopenije u grupi umrlih pacijenata može biti mogući prediktor kranjeg ishoda. Statistički značajna razlika među posmatranim grupama kada su u pitanju trombociti takođe je utvrđena sedmog dana hospitalizacije te je jasan oporavak broja trombocita kod pacijenata u grupi preživjelih. Na prijemu pacijenta u intenzivnu jedinicu postoji statistički značajna razlika vrijednosti CRP –a za grupe preživjelih i umrlih, tj. CRP ima značajno veću vrijednost na prijemu kod pacijenta u grupi umrlih. Jasna je prediktivnost ovog parametra obzirom da u grupi umrlih pacijenta njegova vrijednost se povećava sedmog dana bolesti što nas upućuje na permanentni hiperinflamatorni odgovor kod pacijenta u ovoj grupi. Dok kod pacijenata u grupi preživjelih vrijednost ovog parametra sedmog dana je statistički značajno manja u odnosu na dan prijema pacijenta u intenzivnu. Obzirom na statistički značajnu razliku vrijednosti IL- 6 među grupama preživjelih i umrlih, na prijemu pacijenata u jedinicu intenzivnog liječenja. LDH se izdvaja kao značajan prediktivan biohemijski parametar. Povišene vrijednosti biohemijskih parametara, sedmog dana bolesti, sa statistički značajnom razlikom među posmatranim grupama, nađane su za sledeće parametre: kreatinin i direktni bilirubin. I ova studija je pokazala značajnu hipoalbuminemiju kod pacijenata oboljelih od COVID – 19, sa statistički značajnom razlikom na prijemu i većom hipoalbuminemijom kod pacijenata u grupi umrlih. Ova studija je pokazala da je kod pacijenata na prijemu vrijednost laktata bila statistički značajno veća u grupi umrlih pacijenata. Prosječna vrijednost iznosila je 2.5 mmol/L (IQR 1.8-3.13).

Faktori koagulacije

Posmatrano za vrijednost D – dimera i ova studija je potvrdila nalaz ranijih istraživanja. Za obe formirane grupe ispitanika, prvog dana hospitalizacije, nađena je statistički značajna

razlika za vrijednost D – dimera između posmatranih grupa, sa značajno većom vrijednošću ovog parametra u grupi umrlih pacijenata. Posmatrano sedmog dana hospitalizacije takođe je nađena statistički značajna razlika za vrijednost D – dimera u obe posmatrane grupe, gdje je signifikantno da se u grupi umrlih pacijenata vrijednost posmatranog parametra i dalje održava na visokim vrijednostima, dok se u grupi preživjelih bilježi značajan pad. Ova studija je pokazala statistički značajnu razliku, za obe grupe ispitanika, i prvog i sedmog dana hospitalizacije za faktor koagulacije II. Potrebno je naglasiti da se vrijednost faktora II nalazi u opsegu referentnih vrijednosti, za obe grupe i prvog i sedmog dana, s tim što su njegove vrijednosti u oba slučaja bile statistički značajno veće u grupi preživjelih. Kriva predikcija mortaliteta za faktor II, jasno pokazuje da površina ispod ROC krive iznosi 0,669, što ukazuje na visoku senzitivnost ovog parametra u predikciji mortaliteta. Takođe, formiranjem logističkog regresionog modela, potvrđena je moguća prediktivna vrijednost ovog parametra obzirom na značajno pojačanje predikcije u generisanom modelu. Ova studija je pokazala i statistički značajnu razliku za obe grupe za faktor koagulacije V, prvog dana hospitalizacije dok sedmog dana ne postoji statistički značajna razlika. Uz korekciju pomoću parametara CRP i godine starosti u okviru logističke regresione analize a za parametar faktor V koagulacione kaskade nije pokazana jasna veza sa mortalitetom te nije nađena statistička značajnost. Međutim formiranjem logističkog regresionog modela jasno je pokazano da faktor V koagulacione kaskade značajan prediktor mortaliteta kod kritično oboljelih pacijenata od COVID – 19 obzirom na značajno pojačavanje predikcije u generisanom modelu. Za faktor koagulacije X, ova studija je takođe pokazala statistički značajnu razliku za grupe pacijenata prvog dana hospitalizacije tj. na prijemu u jedinicu intenzivne njege. Vrijednost parametra bila je statistički značajno manja u grupi umrlih u odnosu na grupu preživjelih. Logističkom regresionom analizom za ovaj parameter nije potvrđena jasna veza sa mortaliteom ali formiranjem logističkog regresionog modela pokazano je da faktor X koagulacione kaskade značajno pojačava predikciju u formiranom modelu i može biti značajan prediktor mortaliteta. Za faktor koagulacije XI, ova studija je takođe pokazala statistički značajnu razliku za grupe pacijenata prvog dana hospitalizacije tj. na prijemu u jedinicu intenzivne njege. Vrijednost parametra bila je statistički značajno manja u grupi umrlih u odnosu na grupu preživjelih. Logističkom regresionom analizom nije potvrđena prediktivna vrijednost ovog parametra kao ni za faktor koagulacije XII ali je formiranjem logističkog regresionog modela potvrđen nalaz studija koje su ranije sprovedene te se i faktor XI kao i faktor XII koagulacione kaskade može posmatrati kao značajan prediktor krajnjeg ishoda. Za faktor koagulacije XIII, u definisanim grupama, sedmog dana hospitalizacije postoji statistički značajna razlika među grupama, sa značajno nižim vrijednostima za ovaj parameter u grupi umrlih ispitanika. Formirani logistički regresioni model je potvrdio prediktivni značaj faktora koagulacije XIII. Za faktor koagulacije protein C, kao fiziološkog inhibitora koagulacije, u definisanim grupama, sedmog dana hospitalizacije postoji statistički značajna razlika među grupama, sa značajno nižim vrijednostima za ovaj parameter u grupi umrlih ispitanika. Formirani logistički regresioni model za posmatrani faktor koagulacione kaskade, takođe jasno ukazuje da je faktor koagulacije protein C značajan prediktor mortaliteta obzirom da značajno pojačava predikciju u generisanom modelu logističke regresione analize. Za posmatrane parametre ROTEM analize statistički značajna razlika za posmatrane parametre u definisanim grupama ispitanika, prvog dana

hospitalizacije, pronađena je samo za vrijednost INTEM –MCF. Utvrđeno je da je vrijednost ovog parametra statistički značajno veća u grupi preživjelih pacijenata. Logistička regresiona analiza za ovaj parametar, uz korekciju pomoću parametara CRP i godine starosti pokazuje jasnu vezu sa mortalitetom i moguću prediktivnu vrijednost ovog parametra. U grupi umrlih pacijenta za parametre ROTEM analize, prvog i sedmog dana, postoji statistički značajna razlika za parametre subseta INTEM CFT, A5 i A10, za parametar subseta FIBTEM MCF, za parametre subseta EXTEM CFT, A5, A10 i MCF te za parametre subseta HEPTEM CFT, A10 i MCF. Vrijednosti za parametar CFT u svim posmatranim subsetovima su statistički značajno produžene sedmog dana hospitalizacije dok su ostali parametri značajno smanjeni sedmog dana posmatranja. Kada se posmatra grupa preživjelih pacijenata, prvog i sedmog dana (tabela br.10a, 10b, 10c, 10d), samo u subsetu FIBTEM postoji statistički značajna razlika za parametre A5, A10 i MCF.

Rezultati istraživanja su prikazani na pregledan način i u saglasnosti su sa postavljenim ciljevima istraživanja. U poglavlju Diskusija, kandidatkinja je pokazala objektivan i kritički stav u procjeni i tumačenju dobijenih rezultata, kao i u komparaciji sa rezultatima drugih autora iz ove oblasti, koristeći najaktuelniju literaturu.

Rezultati ove doktorske disertacije proširuju postojeća znanja iz oblasti kritične bolesti uzrokovane infekcijom korona virusom kao i dijagnostici poremećaja koagulacije u jedinici intenzivne medicine, prediktivnom uticaju na mortalitet pojedinih posmatranih parametara kao i njihovoj primjeni u inicijalnom terapijskom pristupu i njenoj daljoj modifikaciji kada je u pitanju liječenje kritično oboljelih pacijenata od COVID-19.

Ova doktorska disertacija svojim predmetom i problematikom ukazuje na moguću primjenu *point of care* ROTEM analize u jedinicama intenzivnog liječenja kako za inicijalnu dijagnostiku postojećeg hiperkoagulabilnog stanja tj. poremećaja koagulacije kod kritično oboljelih pacijenata od COVID-19, tako i za dalje usmjeravanje terapijskog pristupa u primjeni antikoagulantne terapije.

Predstavljeni rezultati svakako upućuju na potrebu za daljim kliničkim ispitivanjima, prvenstveno multicentričnim, kako ROTEM analiza tako i ostalih faktora koagulacione kaskade kako bi se što bolje utvrdio njihov mogući prediktivni značaj i opravdanost njihove kliničke primjene u dijagnostici i terapijskom pristupu kod pacijenata koji su kritično oboljeli od COVID-19.

VII ЗАКЉУЧАК И ПРИЈЕДЛОГ

Doktorska disertacija dr Biljane Zlojutro pod nazivom „Analiza parametara koagulacione kaskade kod kritično oboljelih od COVID-19” urađena je prema odobroj prijavi teme i principima izrade naučnoistraživačkog rada, te predstavlja originalno i samostalno djelo kandidata. Kandidat je precizno i logički analizirao predloženu temu istraživanja i doveo rezultate u vezu sa postavljenom hipotezom.

Doktorska disertacija po svojoj sveobuhvatnosti, dobijenim rezultatima i iznijetim zaključcima predstavlja originalan doprinos medicinskoj nauci u sagledavanju značaja poremećaja koagulacije kod kritično bolesnih pacijenata od COVID-19, kao i značaju pojedinih posmatranih faktora koagulacije u predikciji mortaliteta, kako kroz analizu pojedinih faktora velikog koagulacionog statusa, tako i kroz analizu pojedinih parametara point of care ROTEM analize. Disertacija predstavlja originalan doprinos intenzivnoj medicini i medicinskoj nauci uopšte jer proširuje postojeća znanja o dijagnostici poremećaja koagulacije u jedinici intenzivne medicine, prediktivnom uticaju na mortalitet pojedinih posmatranih parametara kao i njihovoj primjeni u inicijalnom terapijskom pristupu i njenoj daljoj modifikaciji.

Članovi komisije na osnovu ukupne ocjene doktorske disertacije jednoglasno daju pozitivnu ocjenu o završenoj doktorskoj disertaciji pod nazivom „Analiza parametara koagulacione kaskade kod kritično oboljelih od COVID-19” dr Biljane Zlojutro i predlažu članovima Naučno-nastavnog vijeća Medicinskog fakulteta Univerziteta u Banjoj Luci da prihvate ovaj izvještaj i omoguće kandidatu da svoju doktorsku disertaciju javno brani.

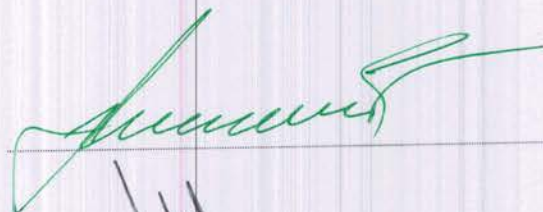
ПОТПИС ЧЛАНОВА КОМИСИЈЕ

Датум: 8. 12. 2022.

Prof. dr Ranko Škrbić, redovni profesor, uža naučna oblast Farmakologija, klinička farmakologija i toksikologija, Medicinski fakultet Univerziteta u Banjoj Luci, predsjednik

2. Prof. dr Jovan Matijašević, vanredni profesor, uža naučna oblast Interna medicina, intenzivna medicina, Medicinski fakultet univerziteta u Novom Sadu, član

3. Doc. Dr Saša Dragić, docent, uža naučna oblast Interna medicina, intenzivna medicina, Medicinski fakultet Univerziteta u Banjoj luci, član





4.

5.

6.

ИЗДВОЈЕНО МИШЉЕЊЕ: Члан комисије који не жели да потпише извјештај јер се не слаже са мишљењем већине чланова комисије, дужан је да унесе у извјештај образложење, односно разлог због којих не жели да потпише извјештај.