

**УНИВЕРЗИТЕТ У БАЊОЈ ЛУЦИ
МЕДИЦИНСКИ ФАКУЛТЕТ**



ИЗВЈЕШТАЈ
о оцјени урађене докторске тезе

ПОДАЦИ О КОМИСИЈИ

На основу члана 149. Закона о високом образовању („ Службени гласник Републике Српске“ број: 73/10, 104/11, 84/12 и 108/13), члана 54. Статута Универзитета у Бањој Луци, Наставно-научно вијеће Медицинског факултета Универзитета у Бањој Луци, на сједници одржаној дана 12.05.2014.године, донијело је одлуку о именовању комисије за оцјену и одбрану урађене докторске тезе мр Драгице Драгановић под насловом : „Корелација маркера оксидативног стреса са морфолошким анализом постелице код хипертензије у трудноћи“ у саставу:

1. Др Ненад Лучић, ванредни професор, ужа научна област Гинекологија и опстетриција, Медицински факултет Универзитета у Бањој Луци, предсједник;
2. Др Весна Ећим-Злојутро, редовни професор, ужа научна област Гинекологија и опстетриција, Медицински факултет Универзитета у Бањој Луци, ментор и члан;
3. Др Небојша Митић, редовни професор, ужа научна област Патологија, Медицински факултет Универзитета у Приштини, истурено одјељење Косовска Митровица, члан.

1. УВОДНИ ДИО ОЦЈЕНЕ ДОКТОРСKE ТЕЗЕ

Докторска теза кандидата мр Драгице Драгановић под насловом ”Корелација маркера оксидативног стреса са морфолошким анализом постелице код хипертензије у трудноћи” садржи осам поглавља: Увод, Хипотеза, Циљ, Испитаници и методе рада, Резултати рада, Дискусија резултата рада, Закључци и Литература. Написана је на 215 страна и садржи: 53 табеле, 33 графикана, 3 слике и 223 литературних цитата.

2.УВОД И ПРЕГЛЕД ЛИТЕРАТУРЕ

Уводни дио са прегледом литературе написан је на 75 страна и детаљно сагледава све аспекте обољења хипертензија у трудноћи (РИН), које и данас представља веома значајан и недовољно разјашњен проблем у перинатологији, који може веома неповољно да утиче на здравље труднице, на функције скоро свих њених органа и система, као и на ток трудноће и интраутерино стање плода. Због тога трудноћа компликована хипертензијом спада у групу високоризичних трудноћа. Кандидат јасно наводи да у данашњој релевантној, научној и стручној литератури постоје бројни радови који наводе значај хипертензије у трудноћи, њених како лакших тако и тежих клиничких облика, као водећег узрока смртности и обољења како мајке тако и плода.

Посебно тежиште овога истраживања је на прееклампсији која представља доминантан и карактеристичан облик хипертензивне болести у трудноћи, која чини око 70% свих хипертензија у току трудноће. Учесталост је око 10% са значајним варијацијама у појединим дијеловима свијета у зависности од дијагностичких критеријума. Око 10% случајева се клинички јави прије 34.недеље гестације, а у 25% случајева постоји тешка клиничка слика болести са поремећајем функције виталних органа труднице. Прееклампсија се убраја у обољења у акушерству која су данас водећи узрок матерналног и феталног морбидитета и морталитета у свијету, чак у најразвијенијим земљама свијета је одговорна за преко 15% претерминских порођаја и око 18% матерналне смрти.

Прееклампсија представља доминантан, репрезентативан облик хипертензивне болести у трудноћи којег карактерише присуство повишеног крвног притиска након 20 недеље гестације, појава едема и протеинурије, чије дефинитивно излјечење настаје у првих шест недеља након порођаја.

То је полиморфно обољење које захвата више органских система гравидне жене и плода, са бројним клиничким манифестацијама и са врло различитим исходом. Патолошко доминира генерализирани вазоспазам са посљедичном хиповолемијом и хипоперфузијом органа и утероплацентарном хипоперфузијом. Симптоми прееклампсије нису карактеристични само за ово обољење, него су знаци мултиорганске дисфункције мајке. Прееклампсија се јавља након 20 недеље гестације, чешће после 24 недеље и уколико се раније јави иде са тежим клиничким током и тежим посљедицама како по мајку тако и по плод. Са клиничког аспекта појава болести прије 32 недеље гестације сматра се раном појавом са лошијом прогнозом, а нарочито ако се болест јави прије 24 недеље гестације, честа је интраутерина смрт плода.

Основни симптом прееклампсије је присуство повишеног крвног притиска, мјерен 2 пута у размаку 6 часова у току 7 дана и присуство протеинурије. Кандидат наводи да на основу висине крвног притиска данас у бројној литератури клинички разликујемо благу(mild) прееклампсију и тешку (severe) прееклампсију. Има и аутора који сматрају да ова клиничка подјела није адекватна, јер поједине благе форме могу прерасти у еклампсију и бити леталне и за мајку и за плод.

Блага(mild) прееклампсија се карактерише повишеним систолним RR једнак или већи од 140 mmHg, али не већи од 160 mmHg, дијастолни RR једнак или већи од 90 mmHg, али не већи од 110 mmHg и присуством протеинурије.

Појава протеинурије код прееклампсије (РИН-а) је суштинска карактеристика овог обољења, представља компромитовану функцију бубрега, њена појава је у вези са већом стопом перинаталног морталитета и чешћом појавом еклампсије.

У погледу дефиниције прееклампсије у свјетској литератури још постоји конфузија. Проблеми су прије свега у процјени протеина у урину, јер је концентрација протеина у урину веома варијабилна, посебно ако се мјери дипстиком, подложна је утицају више фактора, укључујући контаминацију вагиналним секретом, крви, бактеријама и промјеном рН урина у gravidитету.

Тешка (severe) прееклампсија, представља клинички тежи облик обољења са теже израженим поменутиим симптомима и појавом других поремећаја. Систолни крвни притисак је једнак или већи од 160 mmHg, дијастолни RR је једнак или већи од 110 mmHg, протеинурија је већа од 2g/24h, или више од 3 + у узорку урина. Излучивање урина је смањено, односно диуреза је мања од 500 ml/ 24h, могу бити присутне сметње од стране CNS и чула (главобоља, поремећај вида, диплопије, вртоглавица, зујање у ушима, поремећај свијести, ментална конфузија итд.), епигастрични бол, наузеја, мука и повраћање.

Често овај тежи клинички облик прееклампсије може бити праћен поремећајем функције јетре, са повишеним трансaminaзама, поремећајем фактора коагулације, падом антитромбина III и фактора VIII, падом тромбоцита тзв. HELLP синдром, што представља лош прогностички знак

Због лошије перфузије постељице код прееклампсије присутна је утероплацентарна инсуфицијенција код око 30% трудница, услјед чега се развија интраутерини застој у расту плода.

Са патофизиолошког аспекта кандидат наводи да најновија сазнања до којих се дошло дају знатно потпунију слику о настанку и развоју овог обољења везаног само за трудноћу. Патофизиолошки низ дешавања код PИH-а, поред многих нејасноћа истиче на прво мјесто постељицу, односно фетоплацентну јединицу као мјесто примарних дешавања који касније покрећу развој болести. Овој тврдњи иде у прилог чињеница да једини радикални начин рјешавања PИH-а, прееклампсије је уклањање постељице, односно завршавање трудноће.

Значајно је истаћи да постељична хипоксија није довољна да изазове све симптоме прееклампсије (PИH-а), као и да постојање постељичне хипоксије не узрокује увијек прееклампсију (PИH) у трудноћи, што имамо код интраутериног застоја у расту плода (IUGR). То упућује на чињеницу да и други фактори могу изазвати постељичну дисфункцију као што су оксидативни стрес, генетски фактор, инфекција, NK ћелије и други.

Једна од бројних новијих теорија говори о томе да је појава PИH-а у трудноћи поремећај који се одвија у двије фазе. Прва или преклиничка (рана фаза) настаје као посљедица лоше трофобластне инвазије, која има за посљедицу неадекватне промјене на утериним артериолама, које као такве неизмијењене неадекватно реагују на вазопресоре што доводи до плацентне хипоксије, односно плацентне хипоерфузије. Локална васкуларна дисфункција постаје генерализирана код тешких облика PИH-а доводећи до дисфункције јетре бубрега, церебралног и хематолошког система, пораста крвног притиска преко 160/110 mmHg.

Друга или касна фаза је фаза плацентног оксидативног стреса, која настаје као посљедица отпуштања плацентних фактора у циркулацију мајке, који имају за посљедицу системску ендотелијалну активацију, вазоспазам. Од степена поремећаја трофобластне инвазије, оштећења плацентације зависи тежина и вријеме појаве ове болести.

На основу тога кандидат наводи да данас у новијој литератури разликују се три типа PИH-а и то: рани, интермедијарни и касни тип. Подјела је извршена не само на основу времена почетка обољења, него и на основу времена завршетка трудноће

због патолошких поремећаја од стране мајке или плода. На основу ове подјеле постоји рана прееклампсија (РИН) која захтијева завршетак трудноће прије 34-те недеље гестације, интермедијарна од 34-37 недеља гестације и касна послје 37 недеља гестације.

Рана прееклампсија (РИН) праћена је високим перинаталним морбидитетом и морталитетом, а главни патофизиолошки механизам је изостанак трофобластне инвазије матерналних спиралних артериола што доводи до високог васкуларног отпора и смањене постелјичне перфузије.

Касна прееклампсија (РИН) више је посљедица поремећаја матерналне конституције везане за постојећи микроваскуларни поремећај мајке, као што је генетска предиспозиција, хипертензија прије трудноће и према најновијим сазнањима касни тип прееклампсије је посљедица неадекватне трансформације екстравилозног трофобласта. Овај тип је чешћи и има клинички повољнији, блажи ток, међутим и овај клинички облик може бити праћен значајним морбидитетом мајке, што исто тако захтијева што ранију дијагностику и адекватно лијечење.

Кандидат даље наводи истраживања о повећаној активности ензима липидне пероксидазе и повећање продуката липидне пероксидације, малондиалдехида код ендотелијалног оштећења, као посљедицу оксидативног стреса. Оштећење ендотела доводи до премећаја у лучењу простацikliна и тромбоксана, који су вазоактивне супстанце, смањена је продукција простацikliна који је снажан вазодилататор. Као посљедица ендотелијалног оштећења долази до генерализираних васкулитиса и вазоспазама, што доводи до повећања периферног отпора и развоја хипертензије и исхемичних промјена у различитим органима труднице, бубрези, јетра, мозак, итд. што представља основ клиничке слике прееклампсије (РИН-а).

Оно што кандидат битно наглашава је да упркос врло бројним клиничким истраживањима, до данас не постоји адекватан терапијски приступ у третману и превенцији РИН-а. Све терапијске мјере примјењују се да се ријеше (или спријечи погоршање) симптоми ове болести трудноће и за кратко вријеме одложи порођај, уколико је то могуће, да би се добио што зрелији и за живот способнији плод. У примјени терапије најбитније је врло пажљиво процијенити ризик за мајку у односу на корист за плод, јер су посљедице и могућности лошег исхода врло велике.

Овим истраживањем детаљно је сагледан и анализиран оксидативни стрес, који се у новије вријеме сматра узроком многих патолошких стања у организму. Оксидативни стрес (OS), се дефинише као неравнотежа или дисбаланс између прекомјерне продукције материја овисних о кисеонику и могућности антиоксидацијског капацитета сваког органа да их елиминише из организма. Сматра се да је нормална трудноћа стање у којем долази до благог пораста оксидативног стреса, али не долази до пораста ткв. слободних радикала (SR) од којих се у новије вријеме велика пажња поклања липидној пероксидацији, која уствари представља оксидативно оштећење липида и повећано стварање липидних пероксида, чији је најчешћи продукт малондиалдехид. Сматра се да липидни пероксиди са своје стране ометају функцију ендотелних ћелија, повећавају вазоконстрикцију и стимулишу лучење тромбоксана. Претпоставља се да је хипертензија у трудноћи, нарочито прееклампсија стање повећане липидне пероксидације, услјед знатног смањења антиоксидацијског капацитета у односу на нормотензивне труднице, што је управо како кандидат наводи била идеја овога истраживања. У савременом акушерству данас, претпоставља се да велики број поремећаја у трудноћи може бити посљедица оксидативног стреса. Трудноћа се сматра као стање повећаног оксидативног стреса и то је физиолошка појава, али

само уколико постоје антиоксидативни механизми који компензују интензивне прооксидативне процесе који се дешавају током трудноће. Међутим данас се претпоставља према наводима из литературе која није бројна, да је хипертензија у трудноћи (РИН) стање изразито повећаног оксидативног стреса, стога је проучавање и испитивање улоге и значаја оксидативног стреса код хипертензивног поремећаја у трудноћи од великог значаја.

Кандидат даље наводи значај постељице за правилан раст и развој плода, као и њену велику улогу на ток и исход порођаја, због чега је постељица још од давних времена заокупљала интересе генерације научника и љекара. Сва патолошка стања на постељници од самог њеног раног развоја, доводе до многих поремећаја, обољења како мајке тако и плода, међу којима је хипертензија у трудноћи (РИН) једно од најзначајнијих.

Новији радови, мањи број њих су испитивали улогу оксидативног стреса у етиологији хипертензије у трудноћи (РИН-а) и добијени резултати указују да оксидативни стрес може да има важну улогу у настанку прееклампсије, јер покреће оштећење ендотела плацентне васкуларизације и имуног одговора. Основни патолошки супстрат хипертензивног поремећаја у трудноћи и прееклампсије као његовог најчешћег клиничког облика је постељична хипоперфузија и генерализирана ендотелна дисфункција, коју може покренути више различитих етиолошких фактора и према наводима из литературе новији радови упућују, да је иницијално мјесто дејства оксидативног стреса постељица.

Управо је из тих разлога ово истраживање обухватило и детаљну морфолошку анализу постељице, са посебним освртом на верификацију хистолошких промјена како по обиму тако и по карактеристикама. У овом истраживању детаљно су анализирани слиједеће хистолошке промјене: инфаркти, интервилозни тромби, калцификације, мурална хипертрофија, аваскуларни вили и фибриноидна некроза чупица. Претпоставља се да као посљедица повишеног стања оксидативног стреса код хипертензивног поремећаја у трудноћи, РИН-а, настаје поремећај плаценталног протока крви, који има за посљедицу интраутерину хипоксију плода. Хипоксија и данас представља најчешћи узрок перинаталног морбидитета и морталитета (50-60%) и као таква је предмет бројних истраживања. Значи суштински поремећај оксидативног стреса код РИН-а је стање интраутерине хипоксије плода услед смањеног постељичног протока крви и поремећеног трансфера O₂.

Све наведене хистолошке промјене код постељица РИН-а резултирају постељичном дисфункцијом, а у генези ових промјена постељица данас се сматра да значајну улогу има оксидативни стрес са етиопатогенетског аспекта обољења, стога детаљна патохистолошка анализа постељица трудница са хипертензијом у трудноћи, која је спроведена у овом истраживању представља и потврду значајне улоге оксидативног стреса у настанку и патогенези овога обољења трудноће. Макроскопски гледано постељице код РИН-а, према мањем броју новијих радова имају знатно мању тежину, волумен, дебљину, пречнике и мањи број котиледона у односу на постељице без компликација, што је био и предмет овога истраживања.

Значајно је нагласити да овако опсежна морфолошка анализа постељица код укупно 200 трудница први пут је рађена на Клиници за гинекологију и акушерство Бања Лука.

На основу напријед наведених чињеница циљеви истраживања ове докторске тезе су осмишљени на слиједећи начин:

1. Утврдити ниво тиобарбитурне киселине (TBARS-а) у крви трудница са

хипертензијом у трудноћи.

2.Анализирати однос вриједности TBARS-а са ултразвучним карактеристикама постелице и стање плода код трудница са хипертензијом у трудноћи.

3.Анализирати узајамну повезаност вриједности тиобарбитурне киселине (TBARS-а) са морфолошким карактеристикама постелице код трудница са хипертензијом у трудноћи.

Ово истраживање је управо усмјерено на анализу постојања оксидативног стреса, степена оксидативног стреса, тачније липидне пероксидације код хипертензије у трудноћи, корелацију тих параметара са клиничким параметрима тока трудноће и порођаја, као и са макроскопским и хистололошким параметрима постелице. Овим истраживањем детаљно су сагледане морфо-хистолошке карактеристике постелице код хипертензије у трудноћи и њихова анализа са маркером оксидативног стреса TBARS-ом.

На крају кандидат објашњава кроз навођење литературе значај истраживања с обзиром да се ради о веома тешком обољењу трудноће са тешким посљедицама како за мајку тако и за плод. Већи дио навода одговарајућих референци било историјског прегледа ове проблематике акушерства, тако и новијих истраживања на том подручју и наводе из новије литературе, говоре у прилог још увијек недовољно истраженог и комплексног проблема трудноће.

У данашњој научној литератури не постоји свеобухватна анализа свих ових параметара заједно.

Докторска теза кандидата мр сци др Драгице Драгановић испитивањем је обухватила, у поређењу са до сада објављеним студијама, већу групу строго селектираних испитаница, трудница са хипертензијом и здравих трудница.

Литература кориштена у изради докторске тезе је адекватна, савремена и укључује све аспекте истраживања ове тезе.

3. МАТЕРИЈАЛ И МЕТОД РАДА

Изабрана методологија је усклађена са циљем истраживања и рађена је као проспективна студија. Истраживање је спроведено на Клиници за гинекологију и акушерство Клиничког центра Бања Лука, у складу са важећим стандардима и прописима Етичког комитета. Обухватило је 200 трудница гестацијске доби од 28 нг. до 40-те нг. које су биле хоспитализоване на одјељењу Перинатологије КГА-а Бања Лука током 2012-те и 2013. године. Порођај свих испитиваних трудница је обављен у Породилишту КГА-Бања Лука према медицинским индикацијама. Свим испитиваним трудницама је вођена уредна медицинска документација о току трудноће, ултразвучном прегледу током хоспитализације, као и порођају. Код свих трудница се радило о једноплодној тачно датираној трудноћи без друге патологије. Мјесто додатних истраживања је Завод за лабораторијску дијагностику КЦ Бања Лука, као и Клиника за Патологију КЦ Бања Лука.

У овом истраживању испитиване труднице су подијељене у двије групе:

-Испитивана група од 100 трудница, код којих је клинички, лабораторијски и

ултразвучно доказано да се ради о трудноћи са хипертензијом.

-Контролна група од 100 трудница, код којих је клинички, лабораторијски и ултразвучно доказано да се ради о трудноћи без хипертензије.

Код свих трудница са хипертензијом (РИН) на одјељењу Перинатологије током хоспитализације примјењиван је исти терапијски третман, оралне терапије, а то је Metyl Dopa таблете у дозама од 500 mg до 2-2,5 g, зависно од висине крвног притиска. Код тешке хипертензије, прееклампсије, поред наведене терапије примјењиван је Nifedipin таблете у дозама од 10 mg до 60 mg зависно од висине крвног притиска. Савјетован је полуслани режим исхране, високопротеинска исхрана, строго мировање и оксигенација.

На одјелењу Перинатологије код свих испитиваних трудница мјерен је RR на 4 h, уколико нерегулисани крвни притисак није захтијевао и чешће мјерење, што је све уредно било записано на листи крвног притиска, који је свака испитивана трудница имала у својој документацији.

Висина крвног притиска мјерена је индиректном, аускултаторном методом помоћу живиног сфингоманомера. Повишеним крвним притиском сматран је једнак или већи од 140/90 mmHg мјерен у сједећем положају два пута у размаку од 6 h, са уредно постављеном манжетном.

Одабир трудница контролне групе, на одјељењу Перинатологије вршен је након прикупљених података за испитивану групу, трудећи се да по гестацији и годинама страости обе групе буду што сличније. Код свих испитиваних трудница, контролна и испитивана група, анализирани су ултразвучни параметри који нису били старији од 7 дана у односу на порођај на одјељенском УЗВ апарату GENERAL ELECTRICES GE LOGIQ Book XP, конвексном сондом 3,5 MHz.

Код свих 200 испитиваних трудница, контролна и испитивана група анализирани су сљедећи параметри:

- старост трудница подијелене у двије групе, од 18-35 година и група преко 35 година.

- паритет испитаница посматране као прворотке и вишеротке

- гестација порођаја посматране у гестацији од 28-31+6 нг, од 32-33+6 нг, од 34-36+6 нг, од 37 -40 недеља гестације (нг), као и просјечна гестација у данима.

- начин завршетка порођаја: вагинални и царски рез.

- тјелесна тежина (ТТ) новорођенчета на рођењу по групама: до 1000 г, од 1000-1499 г, од 1500-1999 г, од 2000-2499 г, од 2500-3499 г, преко 3500 г, као и просјечна тјелесна тежина, (ТТ).

- исход посматраних трудноћа према оцјени виталности плода на рођењу/Аpgar score у 1 и 5 минути, класификовани у групе, 0, од 1-3, од 4-7, и одличан Аpgar score од 8-10.

Анализирани су слиједећи ултразвучни параметри:

1. Биомтерија-дужина бутне кости (FL),

2. Количина плодове воде по Manning-у.

• смањена количина плодове воде (највећи вертикални џеп плодове воде од 0-2 cm)

• нормална (највећи вертикални џеп плодове воде од 3-8 cm)

• повећана (џеп преко 8 cm)

3. Зрелост постелице по Grannum-у (I, II, III степен зрелости)

4. Локализација постелице по Koffinas-у (медијална и латерална)

5. Биофизички профил (BP) плода –процјењиван по Manning-у, (оцјењује се као уредан 8-10 бодова, препатолошки 4-8, патолошки од 0-4 бода), а бодују се слиједећи параметри:

- нон стрес тест (NST) у трајању 30 минута
- дисајни покрети плода
- груби покрети плода
- тонус плода
- количина плодове воде по Manning-у

6. Фетоплацентни протоци:

- Индекс резистенције (RI), проток кроз a.umbilicalis (AU)
- Индекс резистенције (RI), проток кроз a. cerebri mediu (ACM)
- C/U индекс, cerebro-umbilicalni однос
- изостанак дијастоле (AEDF) AU
- негативна дијастола (REDF) AU

Анализирани су и кардиотокографски параметри CTG запис, у трајању од 30 мин. код свих испитиваних трудница укупно код 199 трудница, осим код 1 труднице која је примљена у хитноћи са мртвим плодом због прееклампсије и абрупције постелице. CTG записи нису били старији од 7 дана у односу на порођај, а анализирани су према модификованом CTG скору по Кувачићу и Дражанчићу. Према овим ауторима CTG је уредан од 0 до 2 бода, препатолошки од 3 до 4 бода и патолошки 5 и више бодова. CTG запис је рађен на апарату (COROMETRICS-170 SERIES I BISTOS-BT-350-FETAL MONITOR) у полулежећем положају на лијевом боку.

Свим испитиваним трудницама контролна и испитивана група анализирана је крв на биомаркер оксидативног стреса, вриједности тиобарбитурне киселине (TBARS), спектрофотометријском методом на основу концентрације малондиалдехида, продукта липидне пероксидације у Заводу за лабораторијску дијагностику Бања Лука.

Тиобарбитурна киселина-реактивна супстанца (Tiobarbituric Acid Reactive Substances) је врло осјетљива метода за квантитативно одређивање степена липидне пероксидације, као кључног показатеља оксидативног стреса. Принцип ове скрининг методе је да два молекула тиобарбитурне киселине реагују са малондиалдехидом и гради комплекс који се спектрофотометријски одређује. На одјељењу је узето пет милилитара венске крви из кубиталне вене у стерилну епрувету. Крв је одмах центрифугирана на 3000 rpm 10 минута, одвојен серум и похрањен на -20 C° до анализе. Разина TBARS-а је одређена као еквивалент стандарда малондиалдехида (MDA), у складу с препорукама произвођача (Oxi Select TBARS Analisa Kit (MDA квантификација), а резултат је добијен спектрофотометријски на 532 nm.

Протокол анализе:

1. Сви реагенси су припремљени прије употребе.
2. У епрувету смо додали 100 µl узорка или MDA стандард.
3. У сваку епрувету је додано 100 µl SDS отопине за лизу (у узорке и MDA стандард), добро промијешано. Узорци су се инкубирани 5 минута на собној

температури.

4. Додали смо 250 μ l TBA реагенса у сваки узорак и стандард.
5. Свака епрувета је затворена и инкубирана на 95 °C, 45-60 минута.
6. Епрувете су извађене и охлађене на собну температуру у леденој купки.
7. Све епрувете са узорком центрифугиране су на 3000 обртаја 10 минута. Одвојен је супернатант за даљну анализу.
8. Спектрофотометријско мјерење: 200 μ l MDA стандарда и узорака пребачено је у епрувете и апсорбација је очитана на 532 nm.

Маркер оксидативног стреса који је кориштен у овом истраживању је тиобарбитурна киселина (TBARS), који се користи у истраживачке сврхе од 2008 године, према препорукама произвођача Oxi Select TBARS Analisa Kit. Из досадашње литературе о оксидативном стресу може се закључити да до данас нису одређене нормалне, референтне вриједности појединих маркера тако и за TBARS, вјероватно због недовољних и контраверзних истраживачких резултата. Стога кандидат наводи да се је у овом истраживању руководило сензитивношћу теста према препоруци произвођача и на основу добијених минималних и максималних вриједности добијене вриједности резултата ради детаљније анализе и поређења разврстали у интервале. Интервал ниских вриједности до 20 μ mol, интервал средњих вриједности од 20 до 40 μ mol и интервал високих вриједности TBARS-а преко 40 μ mol.

У Заводу за лабораторијску дијагностику одређиване су биохемијске анализе крви и урина испитиваних трудница, са посебном анализом протеинурије, коју смо одређивали на основу вриједности укупних протеина и албумина у серуму и постојањем протеина у урину квантифицирајући их по Esbahu по коме је уредан налаз губитак протеина 300-500mg/24 h, или вриједности 0, док су патолошки налази губитак протеина +, ++ и +++ у урину.

Морфолошки параметри у овом истраживању анализирани су код укупно 200 трудница. Контролна група од 100 трудница здравих и испитивана група од 100 трудница са хипертензијом (PH). Све постељице су прикупљене након порођаја испитиваних трудница и уредно прослијеђене са тачном документацијом на Клинику за Патологију, КЦ Бања Лука. Са сваке истраживане постељице одстрањен је пупчаник и овоји, свака је опрана у води и остављена да се искапа најмање 2 h. Маса постељице одређивана је без пупчаника вагањем у грамима (g), а пречник и дебљина постељице мјерена у центиметрима (cm). Сви узорци су чувани у 10% формалину, а након 24 h постељице су стављене у парафин. За хистолошку обраду узимани су узорци ткива постељице кроз дебљину читавог органа од хорионске до базалне плоче. Репрезентативни узорци су узети са мјеста инсерције пупчаника, периферног дијела постељице, затим узорак пуне дебљине са макроскопски нормалног дијела постељице и абнормалног дијела ако га има и плацентална мембране. Хистолошке секције су узете микротомом дебљине 8 μ m, сви узорци су обојени хематоксилином и еозином. Биопсијски узорци постељица прегледани су на микроскопу са повећањем 40 пута.

Хистолошка процјена је спроведена посматрајући слиједеће параметре:

- инфаркти
- интервилозни тромби
- калцификати
- задебљање крвих судова-мурална хипертрофија
- фибриноидна некроза чулица
- аваскуларни вили

Од макроскопских параметара анализирани су:

- тежина постељице (g), као средње вриједности и по групама: до 300 g, од 300-500 g, преко или једнако 500 g.
- пречник постељице (cm), као средње вриједности и по групама: до 14 cm, од 14-18 cm, преко или једнако 18 cm.
- дебљина постељице (cm), као средње вриједности и по групама: до 2,5 cm, преко или једнако 2,5 cm.

Да би се могла извршити обрада и анализа резултата истраживања, резултати су прво сређени и груписани према модалитетима од интереса за истраживање. При томе је кориштен MS Excel за табеларно и графичко приказивање резултата.

Резултати су анализирани и представљени путем дескриптивне статистике и адекватних статистичких тестова у аналитичко-статистичком софтверском пакету SPSS (Originally: Statistical Package for the Socila Sciences, later modified to read Statistical Product and Service Solutions).

За тестирање нормалности распођеле коришћен је Kolmogorov-Smirnov-ов тест, а при граничним случајевима Shapiro-Wilk-ов тест.

При номрмалној распођели коришћен је t – тест независних узорака, а у случајевима у којима основни скуп знатније одступа од нормалне распођеле примјењиван је Mann-Whitney-ев U -тест.

Mann-Whitney-ев U -тест је еквивалент параметарском t – тесту независних узорака, при чему пореди медијане узорака. Добијене вриједности претвара у рангове обију група, а затим израчунава значајност разлике рангова група.

Ни-квадрат (χ^2) тест

Најчешће се користи код података датих категорија. Основа му је поређење опсервираних и очекиваних фреквенција у различитим категоријама.

У таблицама контингенције 2 x 2 вршена је корекција према Yates-у.

Ако су поједине учесталости у пољима таблице контингенције 2 x 2 мање од пет (5) или је укупан број испитаника мањи од 20 примјењиван је Fisher-ов тест.

Правилно употребљеном статистичком анализом података, добијени резултати су јасно приказани.

Одобрени циљеви и методологија који су дати приликом пријаве докторске тезе остали су непромјењени током рада.

Наведене методе израде докторске тезе су потпуно адекватне испитиваној тематици и веома савремене посебно имајући у виду добијене резултате који могу бити примјењљиве у клиничкој пракси.

4. РЕЗУЛТАТИ И НАУЧНИ ДОПРИНОС ИСТРАЖИВАЊА

Добијени резултати су приказани на 61 страници, а анализирани су кроз дискусију на 33 странице. Кроз дискусију кандидат показује способност да синтетизује податке, разматра резултате, доводи их у међусобну везу са клиничким параметрима и доступним дијагностичким методама и упоређује их са доступним подацима из новије литературе.

Ово истраживање усмјерено је на анализу постојања оксидативног стреса, степена оксидативног стреса, тачније липидне пероксидације код хипертензије у трудноћи и корелација тих параметара са клиничким параметрима тока трудноће и порођаја, као

и са макроскопским и хистололошким параметрима постељице.

Резултате истраживања испитиване групе, труднице са хипертензијом (РИН) и контролне групе које су здраве труднице, детаљно су анализирани прво према антропометријским параметрима трудноће и порођаја. Анализа добијених резултата посматрајући испитивану и контролну групу трудница прво је обухватила детаљан приказ антропометријских података, ултразвучних, кардиотокографских, затим детаљну анализу тока трудноће и порођаја, са посебним освртом на исходе, компликације и мајке и плода. Детаљно су сагледане и приказане макроскопске и хистолошке карактеристике постељице испитиване и контролне групе трудница. Значајно је нагласити да су наведене анализе клиничких, ултразвучних, лабораторијских и морфо-хистолошких параметара трудноће и порођаја код хипертензије у трудноћи први пут рађене на Клиници за гинекологију и акушерство Бања Лука.

Кандидат даље наводи да би се одговорило на постављене циљеве, добијене резултате контролне и испитиване групе трудница о току трудноће и порођаја су поређени са добијеним вриједностима маркера оксидативног стреса TBARS-ом, као и са резултатима и параметрима добијених морфо-хистолошких анализа постељице. Резултати су приказани и упоређивани као средње вриједности, или као анализа посматрана по групама, зависно од врсте анализираних параметара. Код свих анализираних параметара урађена је статистичка значајност са већ описаним статистичким методама све у циљу свеобухватнијег сагледавања добијених резултата.

Детаљно су сагледани параметри тока трудноће и порођаја свих 200 посматраних трудница, као и макроскопске и хистолошке карактеристике свих 200 постељица. Добијени резултати анализирани су прво као средње, аритиметичке вриједности, с обзиром да се ради о великом броју параметара. Резултати који се нису могли приказати као средње вриједности анализирани су упоређујући их по групама, уз обавезне статистичке нивое значајности.

Да би резултати истраживања били што свеобухватнији испитивана група, труднице са РИН анализирана је по групама, блага РИН, висина RR до 160/110 mmHg и тешка РИН, висина RR једнака или већа од 160/110 mmHg.

Резултати истраживања испитиване групе, труднице са РИН и контролне групе које су здраве труднице, детаљно су анализирани прво према антропометријским параметрима трудноће и порођаја. Анализа према старости трудница указује да постоји разлика испитиване и контролне групе која је високо статистички значајна, примјеном Mann Whitney-ог теста. Труднице испитиване групе су биле старије у односу на контролну групу здравих трудница, добијени резултати се слажу са подацима из новије литературе да се хипертензија у трудноћи чешће јавља код трудница старије животне доби. Анализа према паритету показује да није добијена статистичка значајност и добијени резултати се не слажу са подацима из литературе да је хипертензија у трудноћи чешћа код прворотки.

Посматрајући гестацију порођаја у данима, анализирајући средње вриједности добијена је високо статистички значајна разлика, труднице испитиване групе, су имале знатно нижу гестацију порођаја у односу на контролну групу, добијени резултати се слажу са подацима из литературе. Хипертензија у трудноћи је један од значајних узрока пријевременог порођаја данас у свијету и то јатрогеног типа, јер је завршетак трудноће било да је у интересу мајке или плода или и мајке и плода једна од терапијских мјера. Труднице са РИН имале су знатно већи број пријевремених порођаја у гестацији до 33^н+6^д у односу на здраве труднице. Добијени резултати слажу са подацима из новије литературе.

У овом истраживању детаљно су анализирани клинички параметри вођења тока трудноће, као што су ултразвучни параметри (UZV) и кардиотокографија (CTG). Од UZV параметара који се односе на биометрију плода детаљно су анализирани дужина бутне кости (FL). Анализом ових параметара у овом истраживању кандидат наводи да су труднице са PИH рађале дјецу са мањом тјелесном масом, пријевремено рођену дјецу, као и дјецу са застојем у расту, што су свакако најзначајније компликације хипертензије у трудноћи, добијени резултати се слажу са резултатима из литературе.

Анализирајући фетоплацентне протоке испитиване и контролне групе посматрани су индекс резистенције (RI), кроз умбиликалну артерију (AU) и средњу мождану артерију (АСМ). Анализирани су и цереброумбиликални однос, однос C/U и изостанак дијастоле у умбиликалној артерији, који су према садашњим радовима најсензитивнији параметри за процјену интраутерине патње плода нарочито код високоризичних трудноћа. Посматрајући средње вриједности отпора, индекс резистенс (RI) кроз умбиликалну артерију испитиване групе и контролне групе трудница, добијена је високо статистички значајна разлика у вриједности (RI) испитиване и контролне групе трудница. Добити резултати се слажу са резултатима из литературе. Промјене у крвним судовима постеличних чупица код PИH-а имају за посљедицу пораст отпора (RI) индекс резистенције у умбиликалној артерији (AU).

Посматрајући отпор RI средње мождане артерије (АСМ) у овом истраживању није добијена статистичка значајност, добијени резултати се не слажу са резултатима из литературе гдје су нађени повишени RI у АСМ, зато је анализирани доплерски параметар C/U однос. Анализирајући цереброумбиликални однос (C/U), као један од најсензитивнијих параметара за пренаталну дијагностику и процјену интраутериног стања плода нарочито код високоризичних трудноћа у овом истраживању добијена је висока статистичка значајност. Труднице испитиване групе су имале знатно нижу вриједност C/U односа. Добити резултати се слажу са резултатима из литературе.

Изостанак дијастоле (AEDF) AU у овом истраживању нађен је код 8 трудница са PИH-ом од укупно 100 испитиваних, што је високо статистички значајно, док код трудница контролне групе није нађен изостанак дијастоле у AU. Добити резултати указују да је поменути ултразвучни параметар врло сензитиван код тешке интраутерине патње плода што се често налази код високоризичних трудноћа као што је PИH, добијени резултати се слажу са резултатима из литературе. Кандидат даље истиче анализу реверзне дијастоле (REDF) у AU која није нађена у обе посматране групе, према многим ауторима то је сигуран показатељ тешке инсуфицијенције постелице и знак за врло скору интраутерину смрт плода. Добити резултати реверзне дијастоле AU у овом истраживању указују на свакако добру пренаталну дијагностику и интензиван интраутерини надзор плода и трудница на клиници.

Процјена UZV-количине плодове је према бројним ауторима Manning, Phellan и AFI су врло битан показатељ за интраутериног стање плода и процјену функције постелице, кандидат наводи да је обавезно кориштен у клиничком раду. Смањену-мање плодове воде, анализирани према Manning-у нађена је код 21 труднице у испитиваној групи, док у контролној групи код само 4 труднице, што је високо статистички значајно, добијени резултати се слажу са подацима из литературе и указују да је овај UZV параметар веома сензитиван у пренаталној дијагностици интраутериног стања плода код хипертензије у трудноћи (PИH-а).

Посматрајући биофизички профил плода (BP) по Manning-у добијени резултати указују да су препатолошки и патолошки (BP) плода у испитиваној групи чешћи,

добијена је високо статистички значајна разлика, добијени резултати се слажу са подацима из литературе, што упућује на закључак да је овај UZV параметар веома сензитиван за праћење и процјену интраутериног стања плода. Кандидат даље наводи да према радовима Koffinasa и сарадника латерална локализација постелице је чешћа код хипертензије у трудноћи (PIH-a) због неједнаке трофобластне инвазије обе утерине артерије, стога је и анализирана у овом истраживању. Добијени резултати не потврђују ту теорију, није добијена статистичка значајност у обе посматране групе. Резултати упућују на закључак да су латерално локализоване постелице много рјеђе у односу на медијално локализоване постелице. Веома ријетка заступљеност латерално локализоване постелице, кандидат наводи да се објашњава чињеницом да је она уствари нефизиолошка и неприродна у односу на медијалну локализацију која је далеко чешћа и физиолошка је.

Даља анализа UZV параметара поред већ наведених је параметар процјена зрелости постелице по Grannum-у, кандидат нарочито истиче пријевремену зрелост постелице, то јест постојање III степена зрелости постелице по Grannum-у до 34-те недеље гестације. У овом истраживању нађен је много већи број III степена зрелости постелице је код испитиване групе, 82 труднице, у односу на контролну групу, што је високо статистички значајно, добијени резултати се слажу са подацима из литературе, а из резултата може се закључити да је и овај UZV параметар значајан за процјену интраутериног стања плода, с обзиром да је код испитиване групе био знатно већи број трудноћа са нижом гестацијом до 34-те недеље гестације.

Анализиран је антепартални CTG запис, кандидат наводи клинички значај кардиотокографије као веома сензитивне, објективне и моћне методе за интраутерину процјену стања плода. Труднице испитиване групе су имале знатно већи број препатолошких и патолошких CTG записа укупно 26 од 99 испитиваних, што је високо статистички значајно док код контролне групе од 100 трудница није нађен ни један препатолошки и патолошки CTG запис, добијени резултати се слажу са резултатима из литературе, кандидат наводи да је кардиотокографија и данас веома поуздана метода за пренаталну дијагностику прије свега високоризичних трудноћа као што је хипертензија у трудноћи (PIH).

Анализирајући тјелесну тежину (ТТ) новорођенчади добијена је високо статистички значајна разлика испитиване и контролне групе трудница. Труднице испитиване групе су рађале дјецу ниже тјелесне тежине испод 2000 g чешће у односу на труднице контролне групе, због чешћих интраутериних застоја у расту плода (IUGR) и пријевремених порођаја, што су резултати овога истраживања показали.

Посматрајући виталност новорођенчади на рођењу у 1. и 5. минути, Apgar score, испитиване и контролне групе и групишући вриједности Apgar score у 1. мин од 0-7 (мртав плод, тешка и блага асфиксија) у једну групу, а вриједности од 8-10 (одлична кондиција плода) у другу групу, добијена је висока статистичка значајност. Труднице испитиване групе су рађале дјецу нижег Apgar score у 1. мин. у односу на контролну групу, добијени резултати се слажу са резултатима из литературе и указују да је хипертензија у трудноћи (PIH) и данас значајан узрок перинаталног морбидитета и морталитета у акушерству.

Анализирајући начин завршетка порођаја испитиване и контролне групе добијена је високо статистички значајна разлика у погледу оперативног-царског реза и природног-вагиналног начина порођаја. Труднице испитиване групе, имале су знатно већи проценат царских резова укупно 56% у односу на контролну групу трудница код којих је број царских резова износио 21%. Знатно већи проценат царских резова код трудница са PIH у односу на здраве труднице су резултати који

се слажу са подацима из литературе Оперативни начин завршетка порођаја код хипертензије у трудноћи (PIH) знатно је чешћи, како би се спријечила угроженост мајке, плода или и мајке и плода.

Вриједности систолног и дијастолног крвног притиска (RR) испитиване и контролне групе детаљно су анализирани у овом истраживању, резултати показују да је средња вриједност систолног притиска (RR) код контролне групе трудница 120 mmHg, а дијастолног 70 mmHg. У испитиваној групи средња вриједност систолног (RR) је 160 mmHg, а дијастолног (RR) 110 mmHg. Највећа измјерена вриједност систолног притиска (RR) код трудница са PIH је 220 mmHg, а дијастолног (RR) 160 mmHg. Кандидат наглашава да је у овом истраживању у испитиваној групи био знатно већи проценат трудница 61% са тешком PIH у односу на 39% трудница са благом PIH, што има велики значај у погледу вјеродостојности добијених резултата и њиховог поређења са маркером оксидативног стреса TBARS-ом као и макроскопском и хистолошком анализом постелица.

Кандидат посебно наглашава да овако детаљна анализа клиничких, ултразвучних, кардиотокографских параметара претходно анализирана имала је за циљ њихову корелацију са маркером оксидативног стреса (TBARS-ом), као и макроскопским и хистолошким карактеристикама постелице.

Овим истраживањем анализирани су макроскопски параметри постелице, средње вриједности испитиване и контролне групе у односу на тежину (g), пречник (cm) и дебљину (cm) постелица.

Кандидат наводи да добијени резултати овога истраживања, пошто је добијена висока статистичка значајност по свим наведеним параметрима указују да постелице трудница са PIH имају знатно мању тежину, дебљину и пречнике у односу на постелице контролне групе трудница. Добијени резултати се слажу са резултатима из постојеће литературе, која није бројна.

Од хистолошких параметара у овом истраживању детаљно су анализирани параметри који се према постојећој литератури најчешће могу наћи код високоризичних трудноћа, прије свега код хипертензије у трудноћи (PIH-а) а то су: инфаркти, интервилозни тромби, калцификати, мурална хипертрофија, аваскуларни вили и фибриноидна некроза чупица. Кандидат истиче да значај анализе хистолошких карактеристика постелица код PIH-а у овом истраживању, није само потврда патолошких промјена који су карактеристични за хипертензију у трудноћи, него у корелацији наведених параметара са маркером оксидативног стреса (TBARS-ом). Анализирајући хистолошки параметар-инфаркт испитиване и контролне групе добијена је високо статистички значајна разлика. Постелице испитиване групе имале су знатно већи проценат инфаркта у односу на постелице контролне групе трудница. Резултати овога истраживања слажу се са резултатима из литературе.

Анализирајући хистолошки параметар-интервилозни тромб испитиване и контролне групе, добијена високо статистички значајна разлика. Постелице испитиване групе су имале знатно већи проценат интервилозних тромба у односу на постелице контролне групе, добијени резултати указују да налаз интервилозних тромба је веома карактеристичан хистолошки параметар за постелице са хипертензијом, добијени резултати слажу са резултатима из постојеће литературе.

Посматрајући хистолошки параметар-калцификати испитиване и контролне групе добијени резултати показују да је добијена високо статистички значајна разлика. Постелице испитиване групе, су имале знатно већи проценат калцификата у односу на постелице контролне групе трудница, резултати указују да су калцификати веома чест хистолошки параметар постелица са хипертензијом, али да се у доста

великом проценту могу наћи и код постелица здравих трудница, нарочито у гестацији око термина, према ауторима посљедица су старења постелице. Добијени резултати се слажу са резултатима из литературе.

Анализирајући хистолошки параметар-мурална хипертрофија испитиване и контролне групе добијени резултати показују да је добијена високо статистички значајна разлика. Постелице испитиване групе су имале знатно већи проценат муралне хипертрофије у односу на постелице контролне групе трудница. Добијени резултати указују да је мурална хипертрофија доста чест хистолошки параметар постелица са хипертензијом, али да се у мањем проценту могу наћи и код постелица здравих трудница, добијени резултати се слажу са резултатима из постојеће литературе.

Кандидат даље наводи детаљну анализу хистолошких параметара фибриноидну некрозу чупица и аваскуларне виле, који представљају најтеже васкуларне промјене у постелици. Фибриноидна некроза чупица настаје као посљедица тешке исхемије, представља стање гдје је строма чупица замијењена фибриноидом, а аваскуларни вили настају због облитерације лумена и фиброзације строме. Анализирајући фибриноидну некрозу чупица испитиване и контролне групе добијена је високо статистички значајна разлика, добијени резултати указују да је фибриноидна некроза хистолошки параметар карактеристичан за хипертензију у трудноћи (РИН) и одражава тешке васкуларне лезије постелице. Добијени резултати се слажу са подацима из литературе.

Кандидат посебно наглашава да аваскуларни вили представљају сигурно најтежи хистолошки параметар хипертензивног поремећаја у трудноћи, анализирајући постелице испитиване и контролне групе није добијена статистички значајна разлика у погледу овог параметра. Од 100 постелица испитиване групе, трудница са РИН аваскуларни вили су нађени код 3 постелице, док код 100 постелица контролне групе овај параметар није нађен, није добијена статистичка значајност $p=0.246$, али добијени резултат упућује на чињеницу да су прекиди трудноћа трудница са РИН вршени правовремено у највећем броју случајева и указују свакако на добар надзор и мајке и плода.

Анализирајући компликације у току трудноће и порођаја кандидат наводи да је хипертензија у трудноћи (РИН) болест трудноће која је и данас један од најзначајнијих узрочника смрти мајке, морталитет је око 12% од укупне матерналне смртности, према другим ауторима око 11%. Смртност мајке дешава се због тешких компликација које прате ово обољење као што су: HELLP- синдром, пријевремено одљубљење нормално усађене постелице-абрупција плаценте, еклампсија, хеморагија, едем и емболија плућа, бубрежна инсуфицијенција, ДИК, крварења у мозгу. Компликације које могу настати код РИН-а врло су тешке и озбиљне у смислу да могу угрозити живот и мајке и плода, Зато су у овом истраживању детаљно анализирани постојање најчешћих компликација ове болести трудноће. Добијени резултати показују да у контролној групи трудница није нађена ни једна компликација током трудноће и порођаја, док у испитиваној групи од укупно 100 трудница, било је 18 компликација код 14 трудница, 4 труднице су имале по 2 компликације. Највећи број компликација односио се на абрупцију постелице 8, хеморагију 4, HELLP-синдром 2 и еклампсије 2, добијени резултати се слажу са подацима из литературе.

Анализирајући заступљеност наведених компликација кандидат наводи да није добијена статистички значајна разлику у присутности ниједне компликације. Све наведене компликације биле су подједнако заступљене.

Имајући у виду да најновија сазнања о патофизиологији и етиологији РИН-а, указују

на разлику између благе и тешке прееклампије (PIH-a) у погледу времена почетка болести, тежине клиничке слике и тежине компликација, овим истраживањем анализирани су компликације према висини крвног притиска (RR). Добијени резултати указују да је добијена високо статистички значајна разлика у присуству компликација код испитиване групе, труднице са тешком PIH су имале знатно већи број компликација укупно 17 код 14 трудница, 4 труднице са тешком PIH су имале по 2 компликације. Труднице са благом PIH имале су само 1 компликацију, добијени резултати се слажу са најновијом литературом.

Посматрајући исход мајке након порођаја испитиване и контролне групе добијени резултати показују да није добијена статистички значајна разлика у исходу трудница испитиване и контролне групе након порођаја. У испитиваној групи нађене су компликације код 5 трудница, док у контролној групи трудница није било ни једне компликације. Разлика није статистички значајна, али ипак постоји разлика испитиване и контролне групе јер је примјеном Фисхер-овог теста $p=0,059$, вриједност је на граници статистичке значајности. Добијени резултати свакако упућују на добру пренаталну дијагностику, добро вођење тока трудноће и порођаја, као и благовремен прекид трудноће. Кандидат даље наводи да поред компликација мајке значај овог обољења је утолико већи, јер је праћен високим морталитетом и морбидитетом плода, по многим ауторима око 1 до 2%. Добијена је високо статистички значајна разлика, новорођенчад трудница са PIH имала су знатно већи број компликација у односу на новорођенчад контролне групе трудница, добијени резултати се слажу са подацима из постојеће литературе.

Један од основних циљева овога истраживања је анализа постојања оксидативног стреса, степена оксидативног стреса, липидне пероксидације код хипертензије у трудноћи (PIH-a), као и корелација тих параметара са клиничким параметрима тока трудноће и порођаја, макроскопским и хистололошким параметрима постељице. Кандидат посебно наглашава да би се одговорило на први постављени циљ, а то је утврдити ниво TBARS-a као маркера оксидативног стреса код хипертензије у трудноћи, анализирани су средње вриједности овога маркера испитиване и контролне групе. Добијени резултати показују јасно да је добијена високо статистички значајна разлика у средњим вриједностима TBARS-a испитиване групе и контролне групе трудница. Труднице са PIH су имале знатно вишу средњу вриједност TBARS-a у односу труднице контролне групе. Највећа добијена вриједност TBARS-a испитиване групе је $61,7 \mu\text{mol}$, док је у контролној групи трудница износила $25,8 \mu\text{mol}$. Најнижа добијена вриједност TBARS-a испитиване групе износила је $21,7 \mu\text{mol}$, а у контролној групи $9,10 \mu\text{mol}$. Добијена средња вриједност TBARS-a код контролне групе трудница износила је $13,2 \mu\text{mol}$, док испитиване групе износила је $36,7 \mu\text{mol}$.

Резултати овога истраживања јасно показују и доказују постојање стања изразито повишеног оксидативног стреса код трудница са хипертензијом (PIH).

Да би добијени резултати истраживања били што свеобухватнији и детаљнији, а тиме би ово истраживање дало могућности клиничке примјене овога маркера оксидативног стреса уз свакако додатна истраживања, добијене средње вриједности TBARS-a већ према препоруци произвођача анализирани су у интервалу ниских, средњих и високих вриједности TBARS-a упоређујући испитивану и контролну групу.

Добијени резултати показују да су ниске вриједности TBARS-a до $20 \mu\text{mol}$ нађене код 99% трудница контролне групе, а интервал средњих вриједности TBARS-a код само 1% трудница. У испитиваној групи ниске вриједности TBARS-a није имала ни једна трудница, интервал средњих вриједности TBARS-a од $20 \mu\text{mol}$ до $40 \mu\text{mol}$

нађене су код 66% трудница, док су интервал високих вриједности TBARS-а преко 40 μmol нађене су код 34% трудница са PIH. Добијени резултати јасно показују да су труднице испитиване групе, имале изразито повишене вриједности TBARS-а, у односу на контролну групу. Све труднице испитиване групе, њих 100% имале су вриједности TBARS-а у интервалу средњих и високих вриједности.

Добијени резултати у овом истраживању показују да је хипертензија у трудноћи стање изразито повишеног оксидативног стреса, јер је 100% трудница са хипертензијом имало повишене вриједности TBARS-а, преко 20 μmol , док у контролној групи повишене вриједности TBARS-а нађене су код 1% трудница. Добијени резултати се слажу са резултатима из литературе која није бројна и поменута истраживања су са мањим бројем трудница.

Добијени резултати у овом истраживању показују да је блага хипертензија (PIH) била заступљена код 41% трудница испитиване групе, а средња вриједност TBARS-а износила је 30,30 μmol , док је тешка хипертензија (PIH) била заступљена код 59% трудница, а средња вриједност TBARS-а износила је 41,12 μmol . Статистичком анализом добијена је високо статистички значајна разлика у вриједности TBARS-а код трудница са тешком PIH и благом PIH. Труднице са тешком хипертензијом (PIH) имале су високе вриједности TBARS-а. Добијене средње вриједности TBARS-а су биле у интервалу високих вриједности преко 40 μmol . Резултати овога истраживања потврдили су јасно позитивну корелацију између вриједности TBARS-а као маркера оксидативног стреса и висине крвног притиска (RR), добијени резултати се слажу са подацима из постојеће литературе. Кандидат даље наводи да би се детаљније анализирао и потврдио позитивна корелација између висине вриједности TBARS-а и висине крвног притиска (RR), анализирани су интервали ниских, средњих и високих вриједности TBARS-а испитиване групе посматрајући их као труднице са благом и тешком PIH. Добијени резултати, показују да постоји високо статистички значајна разлика у интервалима средњих и високих вриједности TBARS-а код трудница испитиване групе, трудница са тешком и благом PIH. Од укупно 34 труднице са PIH које су имале вриједности TBARS-а у интервалу високих вриједности преко 40 μmol , 32 труднице су имале тешку PIH, а само 2 труднице са благом PIH, што је високо статистички значајно. Добијени резултати показују да је највећи број трудница са благом PIH имало вриједности TBARS-а у интервалу средњих вриједности од 20 μmol до 40 μmol . Резултати су показали и потврдили позитивну корелацију висине крвног притиска трудница и вриједности маркера оксидативног стреса TBARS-а.

Највеће вриједности TBARS-а су имале труднице са највећим вриједностима крвног притиска и најтежом клиничком сликом. Резултати овога истраживања јасно су потврдили да је хипертензивни поремећај трудноће, (PIH) стање изразито повишеног оксидативног стреса, што указује јасно на могућност клиничке примјене овога маркера оксидативног стреса.

Управо због могућности клиничке примјене TBARS-а као маркера оксидативног стреса, кандидат даље истиче да је ово истраживање било усмјерено на детаљну анализу и поређење испитиване и контролне групе у односу на UZV параметре тока трудноће, који су у претходном тексту већ јасно приказани, кардиотокографски параметри-СТГ запис, лабораторијски параметри-протеинурију, као и компликације током трудноће и порођаја. Упоредили су средње вриједности TBARS-а као и вриједности TBARS-а по групама што како кандидат наводи представља детаљнију анализу све у циљу могућности клиничке примјене овога маркера оксидативног стреса код хипертензије у трудноћи.

Резултати докторске тезе кандидата мр сци мед др Драгице Драгановић приказани су

логичним редом, бројним прегледним и систематизованим табелама и графиконима, а који у потпуности произилазе из примјењене методологије истраживања.

На основу добијених и изнијетих резултата кандидат је дошао до слиједећих закључака који су оригинални и примјенљиви у пракси:

1. Труднице са хипертензијом у трудноћи (РИН) имају изразито повишен степен оксидативног стреса и липидне пероксидације.
2. Здраве труднице 99% имале су вриједности TBARS-а у интервалима ниских вриједности, само 1% здравих трудница имало је вриједност TBARS-а у интервалима средњих вриједности, што указује на низак степен оксидативног стреса, што се сматра физиолошким.
3. Вриједности TBARS-а су у позитивној корелацији са висином крвног притиска (RR), добијена је висока статистичка значајност трудница са тешком РИН у односу на труднице са благом РИН.
4. Анализом антропометријских параметара трудноће и порођаја трудница са хипертензијом и здравих, може се закључити да је хипертензија у трудноћи стање смањене плаценталне функције прије свега респираторне, јер је добијена висока статистичка значајност у односу на дијагностичке параметре за процјену интраутериног стања плода у односу на здраве труднице.
5. У овом истраживању смртност мајки током трудноће и порођаја није нађена, као ни изразито патолошки налаз за процјену интраутериног стања плода –реверзну дијастолу а.umbilicalis (RVDF) код испитиваних трудница, што свакако указује на добар пренатални и интрапартални надзор трудноће и порођаја.
6. Труднице са хипертензијом имале су знатно већи број интраутериног застоја у расту плода и пријевремених порођаја у гестацији до 34 нг. у односу на здраве труднице.
7. Оперативни начин завршетка порођаја код хипертензије у трудноћи знатно је чешћи у односу на здраве труднице, проценат царских резова је 56%, што је високо статистички значајно у односу на здраве труднице.
8. Тешке компликације мајке током трудноће и порођаја, као и компликације плода биле су далеко чешће заступљене код трудница са хипертензијом. Здраве труднице нису имале ни једну компликацију, док су труднице са РИН имале 18 компликација и оне су биле у позитивној корелацији са висином крвног притиска (RR), код тешке РИН нађено је 17 компликација, док код благе РИН само једна.
9. Постељице трудница са хипертензијом биле су знатно мање тежине, дебљине и пречника, имале су знатно већи проценат хистолошких плаценталних лезија: инфаркти, интервилозни тромби, мурална хипертрофија, калцификати, фибриноидна некроза чупица и аваскуларни вили у односу на постељице здравих трудница, што је високо статистички значајно.
10. Анализирајући средње вриједности TBARS-а и UZV параметре тока трудноће

добијена је висока статистичка значајност ових дијагностичких параметара код трудница са хипертензијом и здравих трудница. Труднице са хипертензијом које су имале патолошке параметре, UZV-мање плодове воде, UZV-препатолошки и патолошки ВР и UZV-цереброумбиликални (C/U) однос ≤ 1 , имале су знатно више вриједности TBARS-а у интервалима високих вриједности у односу на труднице са хипертензијом које су и мале уредне наведене параметре. Добијена је висока статистичка значајност ових параметара и вриједности TBARS-а код трудница са РИН. Резултати овога истраживања указују да би одређивање вриједности TBARS-а код трудница са РИН код којих се дијагностикују наведени патолошки UZV параметри могу имати значаја и клиничку примјену, али би свакако захтијевало додатна истраживања на већем броју трудница и до сада у литератури нема података о сличном истраживању.

11. С обзиром на велики значај UZV-цереброумбиликалног (C/U) односа у погледу високе сензитивности за процјену интраутерине патње плода, коју смо потврдили и у овом истраживању, додатном анализом Sperm-овим тестом добијена је висока статистичка значајност и негативна корелација, што значи да при вишим вриједностима TBARS-а ниже су вриједности C/U односа. Тиме смо указали на могућност клиничке примјене TBARS-а за процјену интаутериног стања плода и времена завршетка трудноћа са хипертензијом.

12. Анализирајући параметар UZV-изостанак дијастоле и вриједност TBARS-а код трудница са хипертензијом није добијена статистичка значајност, вриједности су на граници статистичке значајности и имају значаја пошто су све труднице, њих 8 са овим патолошким UZV параметром имале вриједности TBARS-а у интервалима високих вриједности.

13. UZV-параметар зрелост постељице по Grannum-III је значајан али мање сензитиван параметар за процјену интраутериног стања плода, добијена је статистичка значајност и вриједности TBARS-а су биле у интервалима средњих вриједности.

14. Посматрајући кардиотокографију као дијагностичку методу за процјену интраутериног стања плода, труднице са хипертензијом које су имале препатолошке и патолошке CTG записе имале су високе вриједности TBARS-а, у интервалима високих вриједности. Добијена висока статистичка разлика у односу на труднице са хипертензијом које су имале уредне CTG записе, добијени резултати указују на могућност клиничке примјене TBARS-а уз свакако додатна истраживања.

15. Труднице са хипертензијом које су имале већу протеинурију имале су знатно веће вриједности TBARS-а у интервалима високих вриједности. Добијена је високо статистички значајна разлика у вриједностима TBARS-а у односу на труднице са РИН које су имале мању протеинурију, добијени резултати су свакако потврда повећаног стања оксидативног стреса код хипертензије у трудноћи и упућују на могућност клиничке примјене.

16. Највише вриједности TBARS-а имале су труднице са хипертензијом које су имале најтеже компликације током трудноће и порођаја. Резултати показују да постоји високо статистички значајна разлика у вриједности TBARS-а трудница са РИН које су имале компликације и труднице са РИН без компликација. Вриједности

TBARS-a код трудница са компликацијама биле су у интервалу високих вриједности, а највеће вриједности TBARS-a имале су труднице са HELLP синдромом, која је једна од најтежих компликација хипертензије у трудноћи.

17. Анализа хистолошких параметара постелица је показала да постоји изразито висок степен оксидативног стреса и липидне пероксидације код трудница са хипертензијом чије су постелице имале инфаркте и аваскуларне виле, добијена је високо статистички значајна разлика вриједности TBARS-a код трудница са PИH чије су постелице имале наведене хистолошке параметре и трудница са PИH чије постелице нису имале наведене параметре.

18. Налаз хистолошких параметара постелица интервилозни тромби, мурална хипертрофија, калцификати и фибриноидна некроза је показала да постоји повишен степен оксидативног стреса и липидне пероксидације код трудница са хипертензијом чије су постелице имале наведене параметре, добијена је статистички значајна разлика вриједности TBARS-a код трудница са PИH чије су постелице имале наведене хистолошке параметре и трудница са PИH чије постелице нису имале наведене параметре.

19. Резултати показују да су најсензитивнији хистолошки параметри постелица за процјену степена оксидативног стреса и липидне пероксидације инфаркти, интервилозни тромби, фибриноидна некроза чупица и аваскуларни вили, јер су добијене вриједности TBARS-a кретале се у интервалима високих вриједности.

20. Мање сензитивни хистолошки параметри за процјену степена оксидативног стреса и липидне пероксидације су калцификати и мурална хипертрофија, јер су добијене вриједности TBARS-a кретале су у интервалима средњих вриједности.

21. Најсензитивнији хистолошки параметар постелица за процјену степена оксидативног стреса и липидне пероксидације су аваскуларни вили код којих су добијене вриједности TBARS-a биле највеће.

22. Анализирајући макроскопске параметре постелица најсензитивнији параметар за процјену степена оксидативног стреса код хипертензије у трудноћи је тежина, добијена је високо статистички значајна разлика. Труднице са PИH чије су постелице имале тежину испод 300g имале су вриједности TBARS-a у интервалима високих вриједности.

23. Ово истраживање показује да би се TBARS, као маркер оксидативног стреса могао примјењивати у клиничком раду за процјену тежине клиничке слике и времена прекида трудноћа са хипертензијом, али би свакако захтијевало додатно истраживање са већим бројем трудница прије свега са тешком хипертензијом (PИH).

24. Добијени резултати су показали могућност примјене биомаркера оксидативног стреса TBARS-a у раној дијагностици, процјени тежине клиничког тока и благовременог прекида трудноће у интересу мајке и плода, код хипертензије у трудноћи (PИH). Свакако да клиничка примјена TBARS-a као маркера оксидативног стреса, липидне пероксидације захтијева још додатна истраживања.

25. Добијени резултати у овом истраживању су потврдили позитивну корелацију

клиничких дијагностичких метода, морфолошких параметара постељица и вриједности TBARS-a, што свакако има велики значај у евентуалној клиничкој примјени TBARS-a као маркера оксидативног стреса, односно степена липидне пероксидације у превенцији, дијагностици и терапији хипертензије у трудноћи (РИH-a). Ово истраживање показало је да наведене анализе могу у будућности да буду уврштене у протоколе рутинске пренаталне клиничке дијагностике. Међутим,

приказани резултати у овом истраживању и новије спознаје о улози оксидативног стреса, тачније липидне пероксидације код хипертензије у трудноћи и њихова корелација са клиничким перинатолошким параметрима, макроскопским и хистолошким промјенама на постељицама РИH-a, отвориле су и нове могућности и идеје за истраживања још недовољно истражене области акушерства.

5. ЗАКЉУЧАК И ПРИЈЕДЛОГ

Сматрамо да је докторска дисертација мр сци мед др Драгице Драгановић под насловом "Корелација маркера оксидативног стреса са морфолошком анализом постељице код хипертензије у трудноћи" рађена према савременим принципима научно истраживачког рада и резултат је самосталног и оригиналног истраживања. Са успјехом су реализовани постављени циљеви, а резултати су експлицитно приказани. Резултати ове тезе дају допринос у благовременој дијагностици и третману обољења Хипертензија у трудноћи (РИH), која је и данас један од водећих узрока перинаталног морталитета и морбидитета како мајке тако и плода, стога превенција, тачна и благовремена дијагностика ове болести је од непроцјениве важности. Добијени резултати имају могућности клиничке примјене и превенције у дијагностичком, прогностичком и едукативном приступу, имајући у виду добијену позитивну корелацију маркера оксидативног стреса TBARS-a са клиничким, ултразвучним, кардиотокографским, лабораторијским параметрима тока трудноће, код трудница са хипертензијом у трудноћи (РИH). Ово истраживање свакако отвара и нове могућности даљних истраживања у смислу примјене антиоксиданаса у терапији и превенцији хипертензије у трудноћи, као и корелација маркера оксидативног стреса са биомаркерима васкулогенезе и ангиогенезе, који су данас исто тако предмет новијих истраживања.

Истовремено, ова теза показује способност докторанта да истраживању приступи логички, свеобухватно и цијеловито.

Дјело је оригинално и њему сличних у нашој средини није било.

Комисија са посебним задовољством предлаже Научно-наставном вијећу Медицинског факултета у Бањој Луци да усвоји позитивну оцјену ове докторске дисертације и одобри мр сци мед др Драгице Драгановић јавну одбрану.

ПОТПИС ЧЛАНОВА КОМИСИЈЕ

1. Проф. Др Ненад Лучић, предсједник
комисије

2. Проф. Др Весна Епим-Златић,
ментор и члан

3. Проф. Др Небојша Митић,
члан