

УНИВЕРЗИТЕТ У КРАГУЈЕВЦУ
ФАКУЛТЕТ МЕДИЦИНСКИХ НАУКА
НАСТАВНО-НАУЧНОМ ВЕЋУ

1. Одлука Већа за медицинске науке Универзитета у Крагујевцу

Одлуком Већа за медицинске науке Универзитета у Крагујевцу, број IV-03-1177/33 од 07.12.2016. године, именовани су чланови комисије за оцену научне заснованости теме докторске дисертације кандидата **др Станка Петровића** под називом:

“Процена сигурности и ефекта примене антиагрегационе терапије код болесника са средње тешком формом улцерозног колитиса“

На основу одлуке Већа за медицинске науке, формирана је комисија у саставу:

1. **Проф. др Драган Миловановић**, редовни професор Факултета медицинских наука Универзитета у Крагујевцу за ужу научну област *Фармакологија и токсикологија*, председник;
2. **Проф. др Радоје Додер**, ванредни професор Медицинског факултета ВМА Универзитета одбране у Београду за ужу научну област *Интерна медицина*, члан;
3. **Проф. др Небојша Арсенијевић**, редовни професор Факултета медицинских наука Универзитета у Крагујевцу за ужу научну област *Микробиологија и имунологија* и *Онкологија*, члан;
4. **Доц. др Наташа Здравковић**, доцент Факултета медицинских наука Универзитета у Крагујевцу за ужу научну област *Интерна медицина*, члан;
5. **Доц. др Светлана Ђукић**, доцент Факултета медицинских наука Универзитета у Крагујевцу за ужу научну област *Интерна медицина*, члан

На основу увида у приложену документацију, Комисија подноси Наставно-научном већу Факултета медицинских наука Универзитета у Крагујевцу следећи

ИЗВЕШТАЈ

Кандидат др Станко Петровић испуњава све услове предвиђене Законом о високом образовању и Статутом Факултета медицинских наука Универзитета у Крагујевцу за израду докторске дисертације.

2.1. Кратка биографија кандидата

Др Станко Петровић је рођен 14.10.1973. године у Зајечару. Медицински факултет Универзитета у Београду завршио је децембра 1999. године са просечном оценом 8,94. Специјализацију из Интерне медицине завршио је на Војномедицинској академији у Београду - завршни испит положио је септембра 2005. са одличном оценом. Од 14.11.2005. запослен је на Клиници за Гастроентерологију и хепатологију ВМА. Школске 2009/10. године уписао Академске докторске студије смер Клиничка и експериментална интерна медицина - ендокринологија, на Факултету медицинских наука Универзитета у Крагујевцу. Усмени докторски испит положио 2010. године са оценом 10. Члан је Гастроентеролошке секције Српског лекарског друштва, Гастроентеролошког Ендоскопског удружења Србије. Аутор је и коаутор више стручних радова у домаћим и иностраним часописима. Од 04.04.2016. године је изабран у звање асистента за ужу научну област интерна медицина подобласт гастроентерологија на Медицинском факултету Војномедицинске академије Универзитета одбране у Београду.

2.2. Наслов, предмет и хипотезе докторске тезе

Наслов: “Процена сигурности и ефекта примене антиагрегационе терапије код болесника са средње тешком формом улцерозног колитиса“

Предмет: Код болесника са инфламаторним болестима црева је показано да је број тромбоцитних микропартикула значајно повећан у активној фази болести у односу на болеснике који су у ремисији или код здравих особа. Све више података указује да антиагрегациона терапија може смањити системски инфламаторни одговор, при чему се издвајају две групе лекова – *P2Y12* инхибитори, *Clopidogrel* и *Ticagrelor*, и *GPIIb/IIIa* инхибитори.

Хипотезе: Концентрације С реактивног протеина (CRP), sCD40L, интерлеукина- 6 (IL-6), IL-13 и фактора туморске некрозе (TNF- α) у серуму су значајно ниже у групи болесника који су примали *Ticagrelor* поред стандардне терапије у односу на групу која је лечена само стандардном терапијом. Вредност хемоглобина (*Hgb*) у серуму је значајно виша у групи болесника који су примали *Ticagrelor* поред стандардне терапије у односу на групу која је лечена само стандардном терапијом. Зарастање слузнице је израженије код болесника који су примали *Ticagrelor* поред стандардне терапије у односу на групу која је лечена само стандардном терапијом.

2.3. Испуњеност услова за пријаву теме докторске дисертације

Кандидат, др Станко Петровић, је објавио рад у целини у часопису категорије M23, у коме је први аутор, чиме је стекао услов за пријаву докторске дисертације.

Petrović S, Doder R, Perišić N, Petrović M, Brčerević B, Roganović B. Erdheim-Chester disease – A case report. Vojnosanit Pregl. 2016; DOI: 10.2298/VSP151012112P M23

2.4. Преглед стања у подручју истраживања

У патогенези Кронове болести и улцерозног колитиса (инфламаторне болести црева или ИБЦ) инфламација и коагулација имају најважнију улогу. Ова два процеса су у сталној равнотежи и утичу један на други. Инфламација активира коагулацију, а коагулација потом одржава и амплифицира инфламацију, што резултује хиперкоагулабилним стањем. Поремећај броја тромбоцита (Tr) у ИБЦ први пут је показан 1968. године, када је описан пораст броја Tr у активној фази болести. Касније су описани и други поремећаји Tr – смањење запремине Tr, повишен садржај гранула, повећано стање активације у периферној циркулацији, спонтана агрегација и појачано реаговање на агрегационе стимулусе (АДП, колаген, арахидонска киселина) и чешћа појава микротромба у микроциркулацији слузнице црева. За сада се не зна тачан узрок активације Tr, али је инфламација један од важнијих етиолошких фактора. На површини Tr код болесника са ИБЦ је повећана експресија *CD40L* и *P selektina*, преко којих они ступају у контакт са ендотелним ћелијама, мезенхималним ћелијама и леукоцитима и доводе до њихове активације, што је показано повећањем у крви тромбоцитног фактора 4 и бета тромбoglobulina који се ослобађају само из Tr. Важан узрок тромбозе

представља и сидеропенијска анемија. Болесници са ИБЦ имају три пута већи ризик за дубоку венску тромбозу у односу на општу популацију. Инциденца тромбо-емболијских (ТЕ) компликација, артеријских и венских, је 1-7,7% у клиничким студијама, а око 40% у обдукционим налазима. Ови болесници имају 3,6 пута већи ризик за развој тромбо-емболијских (ТЕ) компликација у односу на општу популацију. *CD40-CD40 ligand (CD40L)* пут представља важну спону између инфламације и коагулације, а регулише и инфламацијом изазвану ангиогенезу, преко појачаног стварања *VEGF- A*. Сматра се да су Тг најважнији извор солубилног *CD40L (sCD40L)* и *VEGF- A* у крви ових пацијената. Ендотелне ћелије интестиналне микроциркулације, након развоја инфламације доводе до појачане адхезије Тг који потом ослобађају проангиогене факторе који доводе до инфламацијом изазване ангиогенезе. Једна од најранијих патохистолошких промена у мукози болесника са ИБЦ су Тг микротромби повезани са фибрином, што се не виђа код здравих људи. У крви болесника са ИБЦ налази се повишен број Тг-леукоцитних агрегата (ТЛА). ТЛА су активнији од самих леукоцита и вероватно имају важну улогу у патогенези ИБЦ. Тг представљају главну спону између инфламације и коагулације. Они ослобађају велики број активних супстанци из гранула: фактор активације Тг, тромбоцитни фактор раста, тромбоцитни фактор -4, бета тромбoglobулин, интерлеукин- 1, леукотриени и простагландини. Спонтана агрегација Тг се дешава код око 30% болесника, једна је од првих промена у слузници ових болесника, што не зависи од степена инфламације и не виђа се у другим болестима. Тг су реактивнији, чак и у мирној фази болести. Главно место активације су мезентеријални крвни судови. Када услед инфламаторног процеса, у мезентеријалним крвним судовима дође до активације ендотелних ћелија и експресије адхезивних молекула, Т лимфоцити адхерирају за ендотел и поред осталог служе као место везивања *CD40+Tr* који затим активирају леукоците и процес се амплифицира. У болесника са ИБЦ је показано да је број тромбоцитних микропартикула значајно повећан у активној фази болести у односу на болеснике који су у ремисији или код здравих особа. Показано је да промена броја Тг може бити један од предиктора зацељења слузнице код болесника са улцерозним колитисом. Један вид лечења улцерозног колитиса је и гранулоцитно моноцитна афереза. Промена броја Тг представља један од предиктивних фактора за одговор на терапију циклоспорином у тешком улцерозном колитису рефрактерном на кортикостероиде.

2.5. Значај и циљ истраживања

Значај истраживања се огледа у новим сазнањима о улози тромбоцита у патогенези инфламаторних болести црева, као и у испитивању ефеката примене *Ticagrelor*-а, поред стандардне терапије, у лечењу улцерозног колитиса. Циљ ове студије би био да испита разлике у терапијском ефекту болесника са средње тешком формом улцерозног колитиса између групе пацијената лечених стандардном терапијом и групе пацијената који су поред стандардне терапије примали и *Ticagrelor*. У складу са овим општим циљем постављени су и следећи специфични циљеви:

1. Анализа социо-демографских карактеристика (пол, старост, индекс телесне масе и пушачки статус), *CRP*, *Hgb*, *Tr*, *sCD40L*, *IL-6*, *IL-13* и *TNF- α* у крви болесника са средње тешком формом улцерозног колитиса између групе пацијената лечених стандардном терапијом и групе пацијената који су поред стандардне терапије примали и *Ticagrelor*.
2. Анализа налаза колоноскопије и патохистолошких налаза код свих болесника из обе групе пре започињања терапије и 3 месеца након терапије.
3. Анализа и поређење концентрација *CRP*, *Hgb*, *Tr*, *sCD40L*, *IL-6*, *IL-13* и *TNF- α* у крви пре започињања терапије, 7. и 30. дана након терапије у оквиру групе, као и између група.

2.6. Веза истраживања са досадашњим истраживањима

Резултати све већег броја радова указују на чињеницу да антиагрегациона терапија може смањити системски инфламаторни одговор. Издвајају се две групе лекова – *P2Y12* инхибитори, *Clopidogrel* и *Ticagrelor*, и *GPIIb/IIIa* инхибитори. За *P2Y12* инхибиторе је показано да поред смањења агрегације смањују и активацију тромбоцита, а самим тим и инфламацију, што није још увек доказано за *GPIIb/IIIa* инхибиторе. Током испитивања употребе *GPIIb/IIIa* инхибитора (*Eptifibatide*) у сепси, на анималном моделу показано је да тромбоцити имају главну улогу у изазивању апоптозе имунолошких и неимунолошких ћелија у слезини, што је инхибирано применом *Eptifibatide*-а. Такође, испитивана је примена *P2Y12* инхибитора код добровољаца код којих је изазвана сепса давањем бактеријског липополисахарида интравенски. Коришћени су *Ticagrelor* и *Clopidogrel*, који су смањили

вредности проинфламаторних цитокина у серуму. *Ticagrelor* је довео и до смањеног стварања ТЛА, и имао је израженији антиинфламаторни ефекат од *Clopidogrela*.

2.7. Методе истраживања

2.7.1. Врста студије

Ово је проспективна, рандомизована, двоструко слепа клиничка студија.

2.7.2. Популација која се истражује

У истраживање ће бити укључено 40 пацијената са средње тешком формом улцерозног колитиса који се хоспитално лече у Клиници за Гастроентерологију и хепатологију Војномедицинске академије. Примена лека ће трајати 3 месеца. Пацијенти ће бити подељени у две групе. Једна група ће се лечити стандарном терапијом која подразумева примену *Pronisona*, а друга група ће уз стандардну терапију примати и *Ticagrelor*.

Истраживање је одобрено од стране Етичког одбора Војномедицинске академије.

2.7.3. Узорковање

У истраживање ће бити укључени пацијенти животне доби од 18-60 година код којих је постављена дијагноза средње тешке форме улцерозног колитиса.

Искључујући критеријуми: (1) склоност ка крварењу (INR > 1,3; aPTT > 50 s; Tr < 100000/ml), (2) васкуларни догађај у последња 3 месеца (инфаркт миокарда, цереброваскуларни инсулт, тромбоемболизам), (3) већа хируршка интервенција у последња 3 месеца, (4) трудноћа, (5) Hgb < 100 g/L, (6) већа траума у последња 3 месеца, (7) васкуларна анеуризма, (7) малигнитет, (8) малигна хипертензија и (9) хроничне болести јетре и бубрега.

Пацијенти ће бити подељени у две групе:

1. Група - пацијенти ће бити лечени стандардном терапијом која се заснива на примени кортикостероида, *Pronison* 40 mg qd са постепеним смањењем дозе.
2. Група - пацијенти ће бити лечени стандардном терапијом уз примену *Ticagrelora*, 90 mg qd, током 90 дана.

2.7.4. Варијабле

Анализираће се вредности *CRP*, *Hgb*, *Tr*, *sCD40L*, *IL-6*, *IL-13*, *TNF alfa* у крви пре терапије и 7. и 30. дана након почетка терапије у свакој групи пацијената појединачно, а затим и између група.

Такође ће бити анализиран налаз колоноскопије, макроскопски и патохистолошки, пре и 3 месеца након почетка лечења, у свакој групи пацијената појединачно, а затим и између група.

Код свих пацијената биће анализирани вредности *sCD40L*, *IL-6*, *IL-13*, *TNF- α* у крви, пре терапије и 7. и 30. дана након терапије, у односу на пушачки статус, као и других социо-демографских карактеристика.

Независне варијабле: пол, старост, пушачки статус, телесна маса, телесна висина, индекс телесне масе.

Зависне варијабле:

- Основни хематолошки и биохемијски профил: комплетна крвна слика, уреа, креатинин, гликемија, албумин, калијум, холестерол, триглицериди, AST, ALT, магнезијум, *CRP*; сви параметри ће се одређивати на почетку студије и 7. и 30. дана након почетка терапије.
- Присуство/одсуство крви у столици, што ће се одређивати макроскопски.
- Функција тромбоцита пре терапије, 7. и 30. дана након терапије.
- Концентрације *sCD40L*, *IL-6*, *IL-13*, *TNF- α* у венској крви пре терапије, 7. и 30. дана након терапије.
- Колоноскопија пре започињања терапије и 90. дана након терапије, где ће се пратити присуство ерозија, улцерација, васкуларна шара, вулнерабилност слузнице. На основу тих параметара одредиће се ендоскопски индекс активности (UCDAI) уз помоћ кога се може пратити брзина и степен оздрављења након терапије.

2.7.5. Снага студије и величина узорка

На основу статистичких параметара (снага студије - 0,80; вероватноћа α грешке - 0,05; двострано тестирање; једнаке величине група) да би се пронашла значајна разлика у вредности индекса активности улцерозног колитиса (*Ulcerative colitis disease activity index-DAI* или UCDAI) између групе која је лечена стандардном терапијом и групе која је поред

стандардне терапије добијала и антиагрегациону терапију, (величини ефекта 8,0606; стандардна терапија $3,67 \pm 0,33$; додата антиагрегациона терапија $6,33 \pm 0,33$), израчуната је потребна величина узорка t тестом за независне узорке, користећи G*Power 3.1, од 2 пацијената по групи. Међутим, планира се да се укључи укупно 40 пацијената, односно 20 пацијената по групи.

2.7.6. Статистичка обрада података

Комплетна статистичка анализа података ће бити урађена у статистичком компјутерском програму, *PASW Statistics*, верзија 18. Све атрибутивне варијабле ће бити представљене у облику фреквенци појединих категорија, а статистичка значајност између појединих категорија ће бити тестирана χ^2 тестом. Све континуалне варијабле ће бити представљене у облику средње вредности \pm стандардне девијације, док ћемо за разлике у континуалним варијаблама користити Студентов t тест за независне или зависне узроке или *Mann-Whitny* тест или *Wilcoxon* тест, у зависности од нормалности расподеле, која ће бити испитана *Kolmogorov-Smirnov* тестом. Ако будемо има више од три категорије података онда ћемо радити ANOVA батерију тестова или *Kruskal-Wallis* тест, зависно од тога да ли подаци испуњавају критеријуме за нормалну расподелу података. Корелација између варијабли од интереса (непрекидних и дихотомних варијабли), биће урађена уз помоћ *Spearman's rho* коефицијента корелације ранга (*Spearman's rank-order correlation*), док за корелацију непрекидних варијабли биће коришћена *Pearson's* корелацијаа, а величина корелације ће бити процењена према Кохеновим критеријумима где се коефицијент корелације већи од 0,50 сматра изузетно јаком корелацијом, од 0,30-0,49 средње јаком корелацијом, док је мањи од 0,29 слаба корелација. Све анализе ће бити процењене на нивоу статистичке значајности од $p < 0,05$. Након статистичке обраде података резултати ће бити представљени табеларно и графички.

2.8. Очекивани резултати докторске дисертације

Резултати ове докторске тезе допринеће бољем разумевању односа инфламације и коагулације у патогензи улцерозног колитиса. Очекује се да ће се применом антиагрегационе терапије смањити и интензитет инфламације, што ће допринети

побољшању клиничке слике и бржем зацељењу слузнице колона. У првом плану је безбедност примене *Ticagrelora* код болесника са УК, очекује се да неће бити израженијег крварења из дигестивног тракта. Ефекат давања *Ticagrelora* процениће се праћењем проинфламаторних цитокина у крви, *IL-6*, *IL-13* и *TNF-α*. Очекује се да ће болесници који узимају *Ticagrelor* имати у крви ниже вредности проинфламаторних цитокина у крви, а што ће корелирати са бржим клиничким опоравком и бржим зацељењем слузнице код тих болесника. Важност овог испитивања огледа се и у томе што се очекује да антиагрегациона терапија постане обавезан део протокола код болесника који се лече од УК, са средње тешком и вероватно тешком формом.

2.9. Оквирни садржај докторске дисертације

Циљ овог истраживања је да испита ефекте примене *Ticagrelora*, *P2Y12* инхибитора, у терапији улцерозног колитиса уз стандардну терапију кортикостеридима. Имајући у виду повезаност у процесима инламације и коагулације очекују се значајне промене у праћеним параметрима инфламације између група пацијента лечених стандардном терапијом и стандардном терапијом уз *Ticagrelor*, *IL-6*, *IL-13* и *TNF-α*. Резултати овог истраживања ће омогућити боље разумевање патогенезе улцерозног колитиса и отворити нове терапијске могућности.

3. Предлог ментора

За ментора ове докторске дисертације се предлаже проф. др Дино Тарабар, ванредни професор Медицинског факултета ВМА Универзитета одбране у Београду за ужу научну област Интерна медицина.

Проф. др Дино Тарабар поседује стручне и научне компетенције које су комплементарне са предметом истраживања и испуњава услове за ментора докторских дисертација у складу са стандардом 9. за акредитацију студијских програма докторских академских студија на високошколским установама.

3.1 Компетентност ментора

Радови проф. др Дина Тарабара који су у вези са темом докторске дисертације:

1. Gibson PR, Feagan BG, Sandborn WJ, Marano C, Strauss R, Johanns J, Padgett L, Collins J, **Tarabar D**, Hebzda Z, Rutgeerts P, Reinisch W. Maintenance of Efficacy and Continuing Safety of Golimumab for Active Ulcerative Colitis: PURSUIT-SC Maintenance Study Extension Through 1 Year. Clin Transl Gastroenterol. 2016 28; 7:e168.
2. **Tarabar D**, Kandolf Sekulović L, Tatomirović Ž, Mijušković Ž, Milenković Z, Tarabar O, Pecelj Bročić T. Cutaneous side effects caused by treatment for inflammatory bowel disease. Vojnosanit Pregl 2016; 73(4): 382–389.
3. **Tarabar D**, Hirsch A, Rubin DT. Vedolizumab in the treatment of Crohn's disease. Expert Rev Gastroenterol Hepatol. 2016; 10(3):283-90.
4. Karmiris K, Bossuyt P, Sorrentino D, Moreels T, Scarcelli A, Legido J, Dotan I, Naismith GD, Jussila A, Preiss JC, Kruis W, Li AC, Bouguen G, Yanai H, Steinwurz F, Katsanos KH, Subramaniam K, **Tarabar D**, Zaganas IV, Ben-Horin S; ECCO CONFER investigators.. Cerebrovascular events in inflammatory bowel disease patients treated with anti-tumour necrosis factor alpha agents. J Crohns Colitis. 2015; 9(5):382-9.
5. Rutgeerts P, Sandborn WJ, Fedorak RN, Rachmilewitz D, **Tarabar D**, Gibson P, Haagen Nielsen O, Wild G, Schreiber S, Pena Rossi C, Zignani M; Onercept Study Group. Onercept for moderate-to-severe Crohn's disease: a randomized, double-blind, placebo-controlled trial. Clin Gastroenterol Hepatol. 2006; 4(7):888-93.

4. Научна област дисертације

Медицина. Изборно подручје: Клиничка и експериментална интерна медицина

5. Научна област чланова комисије

1. **Проф. др Драган Миловановић**, редовни професор Факултета медицинских наука Универзитета у Крагујевцу за ужу научну област *Фармакологија и токсикологија*, председник;
2. **Проф. др Радоје Додер**, ванредни професор Медицинског факултета ВМА Универзитета одбране у Београду за ужу научну област *Интерна медицина*, члан;
3. **Проф. др Небојша Арсенијевић**, редовни професор Факултета медицинских наука Универзитета у Крагујевцу за ужу научну област *Микробиологија и имунологија и Онкологија*, члан;
4. **Доц. др Наташа Здравковић**, доцент Факултета медицинских наука Универзитета у Крагујевцу за ужу научну област *Интерна медицина*, члан;

5. Доц. др Светлана Ђукић, доцент Факултета медицинских наука Универзитета у Крагујевцу за ужу научну област *Интерна медицина*, члан

Закључак и предлог комисије

На основу досадашњег научно-истраживачког рада кандидат, др Станко Петровић, испуњава све услове за одобрење теме и израду докторске дисертације. Предложена тема је научно оправдана и оригинална, дизајн истраживања прецизно постављен и дефинисан, а научна методологија јасна и прецизна.

Комисија предлаже Научно-наставном већу Факултета медицинских наука Универзитета у Крагујевцу да прихвати тему докторске дисертације кандидата др Станка Петровића, под називом **“Процена сигурности и ефекта примене антиагрегационе терапије код болесника са средње тешком формом улцерозног колитиса“** и одобри њену израду.

ЧЛАНОВИ КОМИСИЈЕ

1. **Проф. др Драган Миловановић**, редовни професор Факултета медицинских наука Универзитета у Крагујевцу за ужу научну област *Фармакологија и токсикологија*, председник

2. **Проф. др Радоје Додер**, ванредни професор Медицинског факултета ВМА Универзитета одбране у Београду за ужу научну област *Интерна медицина*, члан

3. **Проф. др Небојша Арсенијевић**, редовни професор Факултета медицинских наука Универзитета у Крагујевцу за ужу научну област *Микробиологија и имунологија и Онкологија*, члан

4. **Доц. др Наташа Здравковић**, доцент Факултета медицинских наука Универзитета у Крагујевцу за ужу научну област *Интерна медицина*, члан

5. **Доц. др Светлана Ђукић**, доцент Факултета медицинских наука Универзитета у Крагујевцу за ужу научну област *Интерна медицина*, члан

У Крагујевцу, 12. 12. 2016. године