

Оцена готове докторске тезе,
доставља -

**НАСТАВНО-НАУЧНОМ ВЕЋУ
МЕДИЦИНСКОГ ФАКУЛТЕТА ВОЈНОМЕДИЦИНСКЕ АКАДЕМИЈЕ**

На 29. седници Наставно-научног већа Медицинског факултета ВМА, одржаној 24. 06. 2015. године одређена је комисија за оцену и одбрану готове докторске тезе асс. мр сци мед Горице Ристић из Клинике за реуматологију и клиничку имунологију ВМА, под насловом: „**ЗНАЧАЈ БИОМАРКЕРА КАРДИОВАСКУЛАРНОГ РИЗИКА КОД БОЛЕСНИКА СА РЕУМАТОИДНИМ АРТРИТИСОМ**“

Након увида у достављени материјал и разговора са кандидатом, комисија у саставу: пуковник проф. др сци мед Душан Стефановић-ментор, Клиника за реуматологију и клиничку имунологију ВМА, академик проф. др сци мед Небојша Лалић – председник, декан Медицинског факултета Универзитета у Београду, Клиника за ендокринологију, дијабетес и болести метаболизма Клиничког центра Србије и проф др сци мед Немања Дамјанов – Институт за реуматологију Србије, подноси Наставно-научном већу Медицинског факултета ВМА следећи

ИЗВЕШТАЈ

I ПРИКАЗ САДРЖАЈА ДОКТОРСKE ДИСЕРТАЦИЈЕ

Докторска теза др Горице Ристић садржи све елементе научног рада укључујући следећа поглавља: увод (40 страна), радна хипотеза и циљеви истраживања (2 стране), пацијенти и методе (5 страна), обрада података (1 страна), резултати (30 страна), дискусија (20 страна), закључци (2 стране), прилози и литература (10 страна).

II УВОД, ХИПОТЕЗА И ЦИЉЕВИ ИСТРАЖИВАЊА

У УВОДУ се наводи да болесници са реуматоидним артритисом (РА) имају повећану инциденца кардиоваскуларних болести (КВБ), у односу на општу популацију, која се не може објаснити традиционалним факторима ризика, указујући да РА, сам за себе, представља независни фактор ризика. Наглашава се да је ризик за превремену КВБ у болесника са РА исти као и код оних са дијабетес мелитусом. Перзистентна запаљенска реакција, као основна карактеристика РА, се сматра најважнијим фактором ризика за убрзану атеросклерозу у ових болесника. Показана је изненађујућа сличност у запаљењском и имунолошком одговору у атеросклерози и РА. Примарно место инфламације је синовијално ткиво из кога се ослобађају цитокини са плеотропним функцијама, попут ТНФ α , ИЛ-1 и ИЛ-6. Они посредују у бројним метаболичким процесима путем утицаја на јетру, скелетне мишиће, масно ткиво и ендотел. На тај начин генеришу се проатерогене промене укључујући инсулинску резистенцију, карактеристичну дислипидемију (ХДЛ је у обрнутој пропорцији са ЦРП-ом), протромботски ефекти и ендотелна дисфункција. Хронични пораст нивоа цитокина у циркулацији омогућава перзистирање ових метаболичких поремећаја који убрзавају процес атерогенезе. У болесника са РА је потврђена смањена инсулинска сензитивност, одређена преко хомеостазног модела за процену инсулинске резистенције (ХОМА-ИР), као и њена повезаност са степеном активности РА, серопозитивношћу, нивоима ЦРП-а, ТНФ α и ИЛ-6 у серуму. Такође је нађена смањена способност бета ћелија (процењено преко ХОМА-Б модела) да повећају секрецију инсулина као одговор на развој ИР, која је у обрнутом односу са степеном активности болести. Показано је да ТНФ α и ИЛ-6 ометају преузимање глукозе у периферним ткивима, стимулишу липолизу у масном ткиву уз ослобађање слободних масних киселина и смањују функцију бета ћелија што све доприноси порасту ИР. Поред ХОМА-Б модела посебан значај се придаје одређивању проинсулина који се издвојио као биомаркер дисфункције бета ћелија. За њега је показано да је индиректни предиктор ИР као и независни фактор ризика за КВБ. Због свега наведеног, то је постао популаран метод за дефинисање смањене функције бета ћелија удружене са ИР. С обзиром на сазнања да је смањена инсулинска сензитивност независни кардиоваскуларни фактор ризика, испитиван је њен утицај на убрзану АС у болесника са РА. Показана је повезаност ХОМА-ИР са присуством АС плака и порастом ИМТ-а каротидних артерија. Перзистентна запаљенска реакција у болесника са РА има и значајне протромботске ефекте због утицаја на факторе хемостазе као што су фибриноген, Д-димер и вон Вилебрандов фактор (vWF). Данас се vWF сматра поузданим маркером ендотелне дисфункције/оштећења, која представља иницијални корак у процесу атеросклерозе. Интересантна су и скорашња саопштења да је vWF повезан са инсулинском резистенцијом и дијабетесом тип 2 што намеће размишљање о повезаности vWF са ризиком за КВБ. Значајан пораст фибриногена, Д-димера и vWF је нађен у болесника са РА у односу на општу популацију, као и њихов утицај на преваленцу КВБ. Познато је да ИЛ-6 стимулише синтезу фибриногена и повећава продукцију тромбоцита, стимулише ослобађање vWF из ендотелних ћелија, а заједно са ТНФ α индукује повећану експресију ткивног фактора иницирајући коагулациону каскаду. У здравих особа је

показана независна повезаност повишених нивоа ИЛ-6 са маркерима активације ендотела, међу којима је и vWF. Међу бројним проинфламаторним цитокинима укљученим у патогенезу РА, ИЛ-6 има централно место. Због тога је синтетисано хуманизовано моноклонално антитело које инхибира дејство ИЛ-6 блокарањем његовог рецептора. Ово антитело, под именом тоцилизумаб, је 2009. г. одобрено за лечење болесника са РА. Показана је снажна супресија инфламације и смањење активности РА, што га уз чињеницу да је једини биолошки лек који се може применити као монотерапија, сврстава у скоро идеалне лекове за РА. Иако је безбедност овог лека висока, што потврђује и чињеница да је 2011. г. регистрован и за примену код деце са артритисом, запажен је пораст липида након његове примене и испољила се сумња о пораст атерогеног индекса. У току су велике студије у којима се испитује да ли снажна супресија инфламације која доводи до бројних повољних антиатерогених ефеката, укључујући и пораст ХДЛ холестерола (који је значајан након блокаде ИЛ-6 рецептора због смањења ЦРП-а), поништава овај нежељени ефекат лека.

Кандидат на крају увода наводи да сумирање улога ИЛ-6 у запаљенском одговору, метаболизму глукозе, липида и развоју ИР, као и оне у хемостази, указује на испреплетеност инфламације, метаболичких промена и протромботских ефеката, што све заједно води убрзаној атеросклерози код болесника са РА.

Кандидат потенцира да је до сада објављена само једна анализа на 11 болесника са РА у којој је показано побољшање ИР након терапије тоцилизумабом, а да још увек нема саопштења о функцији бета ћелија панкреаса током терапије тоцилизумабом. Уопштено, постоји само пар радова у вези дисфункције бета ћелија панкреаса код болесника са РА, дефинисане на било који начин.

Из свега наведеног кандидат је поставио следеће **ХИПОТЕЗЕ**:

1. Боленици са реуматоидним артритисом имају повећану инсулинску резистенцију и активност vWF у односу на контролну групу здравих испитаника
2. Пораст инсулинске резистенције и активности vWF су повезани са присуством субклиничке атеросклерозе код болесника са реуматоидним артритисом
3. Инхибиција ИЛ-6 рецептора у терапијске сврхе доводи до смањења инсулинске резистенције услед супресије инфламације

За проверу хипотезе кандидат је дефинисао следеће **циљеве истраживања**:

1. Одредити заступљеност и степен инсулинске резистенције и активност vWF у болесника са РА у односу на контролну групу здравих.
2. Испитати корелацију степена инсулинске резистенције и активности vWF са маркерима запаљенске реакције, активношћу РА и степеном субклиничке атеросклерозе
3. Анализирати утицај блокаде ИЛ-6 рецептора на маркере инфламације, инсулинску резистенцију, активност vWF и активност РА

У поглављу **ПАЦИЈЕНТИ И МЕТОДЕ**, кандидат је детаљно описао методологију истраживања и одабира 90 болесника са реуматоидним артритисом и 37 испитаника за контролну групу, као и групу од 31 болесника који су били на терапији блокатором ИЛ-6. Такође су детаљно описана обележја посматрања и статистичка обрада података. Анализа инсулинске резистенције и функције бета ћелија панкреаса је рађена код свих испитаника, док је проинсулин одређиван само у студији праћења болесника који су примали блокатор ИЛ-6 рецептора. Такође, због немогућности набавке реагенса за одређивање активности vWf за све испитанике, исти је анализиран само у групи од 42 болесника и 32 здраве контроле.

III КРАТАК ОПИС ПОСТИГНУТИХ РЕЗУЛТАТА

У поглављу **РЕЗУЛТАТИ**, табеларно и путем графика су приказани испитивани параметри уз навођење статистичке значајности и повезаности. Најзначајнији резултати ове докторске тезе су:

- Код болесника са РА у односу на контролну групу испитаника је нађен значајно повећан степен инсулинске резистенције (ХОМА2-ИР) и смањена функција бета ћелија панкреаса (ХОМА-%Б) уз компарабилне класичне факторе ризика за ИР (године, БМИ, обим струка, присуство хипертензије).
- У логистичкој регресији, након корекције за неспецифичне маркере инфламације, разлика између анализираних група је значајно умањена али још увек високо статистички значајна
- У мултиваријантној регресији је показано да је РА независан фактор ризика за пораст инсулинске резистенције.
- Болесници са РА који су били на терапији глукокортикоидима су имали сличан степен ИР и функције бета ћелија панкреаса као и они без глукокортикоидне терапије
- У мултиваријантној регресији, уз класичне факторе ризика за ИР, добијена је статистичка значајност само за дневну дозу глукокортикоида, док није било значајности у односу на дужину примене глукокортикоида или на кумулативну дозу примљену током лечења
- Болесници са високом активношћу болести су имали већи степен инсулинске резистенције од оних са ниском или умереном активношћу болести, а да при томе није било значајне разлике нити у присуству класичних фактора ризика за ИР, нити у терапији глукокортикоидима, чиме се потенцира значај инфламације и активности болести
- У мултиваријантној регресији показана је статистички значајна повезаност степена ИР са композитним индексима активности болести, бројем болних зглобова и пацијентовом оценом на визуелној аналогној скали, али не и за број отечених зглобова и не за степен запаљења процењем преко СЕ и ЦРП-а
- Болесници са повећаном ИР (ХОМА2-ИР>1) су имали израженије промене на каротидним артеријама у смислу задебљања интимо-медијалног комплекса

- Болесници са субклиничком атеросклерозом (дефинисаном преко вредности ИМТ-а) су имали већу активност vWF чија је предиктивна вредност потврђена у логистичкој регресији
- Добијена је значајна корелација активности vWF са маркерима запаљења, индексима активности болести и серопозитивношћу (присуство специфичних антитела)
- У групи болесника који су били на терапији блокатором ИЛ-6 рецептора добијено је статистички значајно смањење степена ИР након 3 месеца терапије, без даљег смањења након 6 месеци лечења упркос даљем смањењу степана инфламације и смањењу активности болести
- У групи болесника који су били на терапији блокатором ИЛ-6 рецептора није било значајне разлике у функцији бета ћелија панкреаса ни након 3, ни након 6 месеци лечења
- Највећи степен статистичке значајности међу посматраним параметрима инсулинске резистенције је добијен за ниво проинсулина након 3 месеца терапије који се одржавао у даљем праћењу али без додатног смањења након 6 месеци лечења

IV ОЦЕНА РЕЗУЛТАТА ИСТРАЖИВАЊА

У поглављу **ДИСКУСИЈА**, кандидат анализира добијене резултате упоређивањем са доступним подацима из литературе

Након дискусије дати су **ЗАКЉУЧЦИ**:

1. Болесници са реуматоидним артритисом имају статистички значајно већи степен инсулинске резистенције (ХОМА2-ИР) и смањену функцију бета ћелија панкреаса (ХОМА-%Б) у односу на контролну групу здравих испитаника.
2. Рееуматоидни артритис, сам по себи, представља независни фактор ризика за пораст инсулинске резистенције.
3. Болесници на терапији глукокортикоидима су имали компарабилан степен ИР и функције бета ћелија панкреаса у односу на оне без глукокортикоидне терапије.
4. Добијена је повезаност активности болести са степеном инсулинске резистенције независно од присуства класичних фактора ризика за ИР и терапије глукокортикоидима.
5. Болесници са повећаном ИР (ХОМА2-ИР>1) су имали израженије промене на каротидним артеријама у смислу задебљања интимо-медијалног комплекса.
6. Болесници са субклиничком атеросклерозом (дефинисаном преко вредности ИМТ-а) су имали већу активност vWF чија је предиктивна вредност потврђена у логистичкој регресији.
7. Добијена је значајна корелација активности vWF са маркерима запаљења, индексима активности болести и серопозитивношћу (присуство специфичних антитела).
8. Болесници на терапији блокатором ИЛ-6 рецептора су имали значајно смањење степена ИР након 3 месеца терапије.

9. У групи болесника који су били на терапији блокатором ИЛ-6 рецептора није било значајне разлике у функцији бета ћелија панкреаса ни након 3, ни након 6 месеци у односу на вредности пре почетка лечења.
10. Добијено је значајно смањење вредности проинсулина након 3 месеца терапије које се одржавало у даљем праћењу без додатног смањења након 6 месеци лечења.

V ОБЈАВЉЕНИ РАДОВИ И САОПШТЕЊА КОЈИ ЧИНЕ ДЕО ТЕЗЕ

- Ristić GG, Subota V, Lepić T, Stanisavljević D, Glišić B, Ristić AD, Petronijević M, Stefanović DZ. **Subclinical atherosclerosis in patients with rheumatoid arthritis and low cardiovascular risk: the role of von Willebrand factor activity.**

Рад је прихваћен за штампу 26. 05. 2015.g. за **PloS One (M21)** и очекује се публикација рада 06. 08. 2015.g.

- Радови презентовани у виду абстраката на домаћим и Европским конгресима реуматолога и кардиолога

VI ЗАКЉУЧНО МИШЉЕЊЕ И ПРЕДЛОГ

Колики је значај процене кардиоваскуларног ризика код болесника са реуматоидним артритисом говори и податак да је Европско удружење реуматолога још 2010. године дефинисало препоруке за процену ризика и превенцију развоја КВБ у ових пацијената, а ове године су на Европском конгресу реуматолога презентоване и нове препоруке. Утицај биолошке терапије, посебно блокатора ИЛ-6 рецептора, на развој убрзане атеросклерозе је последњих година у жижи интересовања реуматолога. Сprovedена су обимна истраживања али се још увек трага за најсензитивнијим биомаркером КВ ризика, а ова докторска теза даје значајан допринос овом проблему.

С обзиром на обим анализираних параметара у овом раду, а имајући у виду да кандидат, из техничких разлога, није успео да све параметре анализира у свим групама испитаника, **предлажемо да се у оквиру докторске тезе представе само подаци у вези инсулинске резистенције и функције бета ћелија панкреаса и у складу са тим корекцију наслова теме у "ИНСУЛИНСКА РЕЗИСТЕНЦИЈА КАО БИОМАРКЕР КАРДИОВАСКУЛАРНОГ РИЗИКА КОД БОЛЕСНИКА СА РЕУМАТОИДНИМ АРТРИТИСОМ"**

Ова одлука комисије је подржана и чињеницом да су у стручној литератури доступна само појединачна саопштења у вези удела функције бета ћелија панкреаса у степену инсулинске резистенције код болесника са реуматоидним артритисом, као и то да, за сада, нема саопштења о степена инсулинске резистенције и функцији бета ћелија панкреаса током терапије блокатором ИЛ-6 рецептора, што овој докторској тези даје посебан значај.

На основу изложених чињеница, доле потписана комисија сматра да докторска теза ас мр сци мед Горице Ристић представља значајан допринос у разумевању патогенезе убрзане атеросклерозе у болесника са реуматоидним артритисом и отвара перспективе новим приступима у смањењу кардиоваскуларног ризика код болесника са реуматоидним артритисом. Зато са задовољством предлагемо Научно-наставном већу Медицинског факултета Војномедицинске академије да прихвати овај рад као завршену докторску тезу и одобри њену јавну одбрану.

Београд, 31. 07. 2015. године.

ЧЛАНОВИ КОМИСИЈЕ:

Академик проф др сци мед Небојша Лалић, председник
Клиника за ендокринологију, дијабетес и болести метаболизма
Клиничког центра Србије

Проф др сци мед Неманња Дамјанов
Институт за реуматологију Србије

Пук. проф др сци мед Душан Стефановић, ментор
Клиника за реуматологију и клиничку имунологију ВМА