

УНИВЕРЗИТЕТ У КРАГУЈЕВЦУ
ФАКУЛТЕТ МЕДИЦИНСКИХ НАУКА
НАСТАВНО-НАУЧНОМ ВЕЋУ

1. Одлука Већа за медицинске науке Универзитета у Крагујевцу

На седници Већа за медицинске науке Универзитета у Крагујевцу, одржаној 11.05.2016. године, одлуком бр. 01- 4359/3-11 формирана је Комисија за оцену и одбрану завршене докторске дисертације под називом **„Значај одређивања медијатора инфламације у носном секрету за процену интензитета запаљења у алергијском ринитису“** кандидата Цвете Шпадијер -Мирковић у следећем саставу:

1. **Проф. др Љубица Живић**, ванредни професор Факултета медицинских наука за ужу научну област Оториноларингологија, председник
2. **Проф. др Ненад Балетић**, ванредни професор Медицинског факултета ВМА Универзитета одбране у Београду за ужу научну област Оториноларингологија, члан
3. **Проф. др Данило Војводић**, редовни професор Медицинског факултета ВМА Универзитета одбране у Београду за ужу научну област Имунологија, члан
4. **Проф. др Олгица Гајовић**, ванредни професор Факултета медицинских наука Универзитета у Крагујевцу за ужу научну област Инфективне болести, члан
5. **Доц. др Јелена Пантић**, доцент Факултета медицинских наука Универзитета у Крагујевцу за ужу научну област Микробиологија и имунологија, члан.

Комисија је прегледала и проучила докторску дисертацију Цвете Шпадијер -Мирковић и подноси Наставно-научном већу следећи

ИЗВЕШТАЈ

2.1. Значај и допринос докторске дисертације са становишта актуелног стања у одређеној научној области

Докторска дисертација кандидата др Цвете Шпадијер- Мирковић под називом „Значај одређивања медијатора инфламације у носном секрету за процену интензитета запаљења у алергијском ринитису”, урађена под менторством доц. др Александра Перића, доцента Медицинског факултета ВМА Универзитета одбране за ужу научну област Оториноларингологија, представља оригиналну научну студију која се бави одређивањем медијатора који најбоље одражава стање запаљења носне слузнице, као и утврђивањем реакције слузнице носа након примене локалне кортикостероидне терапије.

Алергијски ринитис представља комплексан поремећај имунског система, посебно у случајевима удружености са хроничним риносинуситисом, пре свега са његовом полипозном формом. Међутим, повезаност између алергијског ринитиса и хроничног риносинуситиса још увек није добро испитана.

Clara cell протеин 16 (*CC 16*), хемокин *CCL5 (regulated on activation, normal T cell expressed and secreted-RANTES)*, *CCL24* (еотаксин-2) као и еозинофилни катјонски протеин (*eosinophil cationic protein-ECP*) су медијатори запаљенске реакције, чије се концентрације могу измерити у носном секрету. Одређивањем концентрација *CC 16*, као и других медијатора запаљења у носном секрету, пре свега оних који регулишу функцију еозинофила (*CCL5* или *CCL24*) или су маркери њихове активности (*ECP*), можемо добити доста драгоцених података о стању хроничног запаљења носне слузнице. Са друге стране, мерењем њихових концентрација пре и после примене локалне кортикостероидне терапије стичемо податке о реакцији слузокоже носа на дату терапију и процени ефикасности истих. Добијени резултати досадашњих истраживања су показали да локална примена кортикостероидних лекова има велики значај у лечењу алергијског ринитиса, од кога пати, како је процењено, око 17 – 28% светске популације, али и у лечењу хроничног риносинуситиса. Мада су до сада реализоване студије које су показале ефекат примене интраназалних кортикостероида на *CC 16* у носном секрету код пацијената са алергијским ринитисом, то није рађено код пацијената са дијагнозом хроничног риносинуситиса. Такође, није сагледан однос концентрација *CC 16* на једној, и *CCL5*, *CCL24* и *ECP* на

другој страни, поготово у контексту њихове повезаности са клиничким карактеристикама пацијената са сезонским , перенијалним , односно са хроничним полипозним риносинуситисом .

У овом истраживању је процењен интензитет хроничног запаљења слузнице носа и параназалних синуса праћењем концентрација четири медијатора инфламације (два хемокина *CCL24* и *RANTES*, регулаторног протеина *CC16* и ензима индикатора функције еозинофила, *ECP*), пре и након примене интраназалне кортикостероидне терапије.

Добијене вредности су показале статистички значајне разлике на нивоу симптома, ендоскопског налаза, процената еозинофила у узорцима носне слузнице, као и вредности медијатора инфламације (*ECP*, *CC16*, *CCL24*, *RANTES*) у носном секрету, пре и након примене флутиказон-фууроата. Статистички значајне разлике су добијене у свим испитиваним групама пацијената, осим у групи са сезонским алергијским ринитисом (АР). Овај детаљ би се могао објаснити чињеницом да концентрације медијатора инфламације у носном секрету код пацијената са сезонским АР значајно варирају у зависности од изложености узрочном алергену. Супротно томе, код пацијената са перенијалним АР, као и код неалергичних и алергичних са хроничним полипозним риносинуситисом (*CRSwNP*), присутан је стални хронични инфламаторни процес чији интензитет не варира значајније током времена, што се огледа у сталности продукције медијатора запаљења у носном секрету.

Резултати овог истраживања омогућавају свеобухватно сагледавање повезаности између концентрација медијатора запаљења и клиничких показатеља степена проширености и тежине алергијског ринитиса и хроничног риносинуситиса .Ово истраживање нам пружа нове информације у погледу лечења алергијског ринитиса и хроничног риносинуситиса интраназалним кортикостероидима и даје нове смернице за примену истих у свакодневној клиничкој пракси.

2.2. Оцена да је урађена докторска дисертација резултат оригиналног научног рада кандидата у одговарајућој научној области

Прегледом литературе и увидом у биомедицинске базе података „PubMed“, „Medline“, „KOBSON“, „SCIndeks“, помоћу следећих кључних речи: „allergic rhinitis“, „CC16“, "chronic rhinosinusitis " , Прегледом литературе је нађена само једна студија која се

бавила нивоима *CC16* у носном секрету код оболелих од перенијалног АР и ту је нађена позитивна корелација између концентрације *CC16* у носном секрету и концентрације издахнутог азот-моноксида (*NO*), као и негативна корелација између нивоа ових антиинфламаторних медијатора и броја мастоцита у носној слузници, што сугерише на заштитну улогу *CC16* и *NO*.

Студија која је предмет ове дисертације је до сада прва која је обухватила четири групе испитаника са хроничним запаљењем слузнице носа и параназалних синуса: са сезонским АР, са перенијалним АР, као и неалергичне и алергичне пацијенте са *CRSwNP*.

На основу ових података, Комисија констатује да докторска дисертација кандидата Цвете Шпадијер -Мирковић под називом „ **Значај одређивања медијатора инфламације у носном секрету за процену интезитета запаљења у алергијском ринитису** ” представља резултат оригиналног научног рада.

2.3. Преглед остварених резултата рада кандидата у одређеној научној области

А. Лични подаци

Цвета Шпадијер- Мирковић рођена је 23.12.1980. године у Косовској Митровици где је завршила основну и средњу школу. Дипломирала је на Медицинском факултету Универзитета у Приштини са привременим седиштем у Косовској Митровици и стекла звање доктор медицине 2007.године.

По завршетку факултета и обавезног лекарског стажа, започиње рад у Здравственом центру Косовска Митровица као лекар где је провела наредне четири године. Након тога, одлази на специјализацију из Оториноларингологије на Војномедицинску академију у Београду коју завршава марта 2016. године са одличним успехом. Од 2012. године је студент Докторских академских студија за изборно подручје Клиничка и експериментална хирургија. Усмени докторски испит је положила 2014. године на Факултету медицинских наука Универзитета у Крагујевцу .

Б. Списак објављених радова (прописани минимални услов за одбрану докторске дисертације)

Кандидат је аутор више оригиналних научних радова и први аутор у раду објављеном у часопису индексираном на SCI листи чији су резултати саставни део докторске дисертације, чиме је испунио услов за одбрану докторске дисертације.

Списак радова у часописима:

1. **Špadijer-Mirković C**, Perić A, Belić B, Vojvodić D. Clara cell protein 16 and eosinophil cationic protein production in chronically inflamed sinonasal mucosa. *Int Forum Allergy Rhinol* . 2016 ; 6(5):529-36. **M21**
2. Perić A, Sotirović J, **Špadijer-Mirković C**, Matković-Jožin S, Perić AV, Vojvodić D. Nonselective chemokine levels in nasal secretions of patients with perennial nonallergic and allergic rhinitis. *Int Forum Allergy Rhinol*. 2016; 6(4):392-7. **M21**
3. Perić A, Baletić N, Sotirović J, **Špadijer-Mirković C**. Macrophage Inflammatory Protein-1 Production and Eosinophil Infiltration in Chronic Rhinosinusitis With Nasal Polyps. *Ann Otol Rhinol Laryngol* 2015 ; 124(4):266-72. **M23**

2.4. Оцена о испуњености обима и квалитета у односу на пријављену тему

Урађена истраживања су у потпуности у складу са пријављеном темом докторске дисертације. Циљеви истраживања и примењена методологија истраживања идентични су са одобреним у пријави тезе.

Докторска дисертација садржи следећа поглавља: Увод, Циљеве и Хипотезе истраживања, Материјал и методе, Резултате, Дискусију, Закључке и Литературу. Рад садржи 7 слика, 14 табела, и 14 графикона.

У поглављу „ Литература“ цитирано је 98 библиографских јединица иностраних стручних публикација.

У **УВОДНОМ ДЕЛУ** аутор је јасно и прецизно, навео важне историјске и епидемиолошке податке, објаснио је патофизиолошке промене, имуни одговор и улогу алергијског ринитиса у патогенези хроничног полипозног риносинуситиса . Посебан значај у уводном делу имају поглавља о патофизиологији алергијског ринитиса и медијаторима инфламације. Наведена су најновија сазнања о механизму настанка алергијског ринитиса и његовој улози у патогенези хроничног полипозног риносинуситиса, клиничкој слици и лечењу истог.

У делу **ЦИЉЕВИ И ХИПОТЕЗЕ ИСТРАЖИВАЊА** јасно су описани главни циљеви и хипотезе истраживања које имају за задатак да одреде медијатор који најбоље одражава стање запаљења носне слузнице, као и реакцију слузнице носа након примене локалне кортикостероидне терапије. Главни циљеви истраживања су били:

1. Упоредна анализа нивоа *CC 16*, *CCL5 (RANTES)*, *CCL24*, *ECP*, као и броја еозинофила у узорцима носне слузокоже код пацијената са сезонским и перенијалним алергијским ринитисом, алергијске и неалергијске форме *CRSwNP* у односу на здраве испитанике.
2. Поређење концентрација горе наведених медијатора инфламације у носном секрету, посебно код пацијената са сезонским алергијским ринитисом у току сезоне изложености инхалационим алергенима, а посебно у групи пацијената са перенијалним (перзистентним) алергијским ринитисом, пре и након примене флутиказон-фууроата.
3. Поређење концентрација истих медијатора запаљења у носном секрету код неалергичних и алергичних пацијената са *CRSwNP*, пре и након локалне примене истог кортикостероидног спреја
4. Поређење утицаја примене локалне кортикостероидне терапије на клиничке карактеристике оболелих од горе наведених хроничних запаљенских болести.

Постављене су следеће хипотезе истраживања: концентрације *CC 16*, *CCL5 (RANTES)*, *CCL24* и *ECP*, измерене у носном секрету су више у пацијената са *CRSwNP* у односу на пацијенте са алергијским ринитисом; концентрације *CC 16*, *CCL5*, *CCL24* и *ECP* су више у пацијената са перенијалним алергијским ринитисом, у односу на пацијенте са сезонским алергијским ринитисом; постоји негативна корелација између концентрације *CC 16* у носном секрету и клиничких показатеља тежине болести (носни симптоми, локални налаз), како у групи оболелих од алергијског ринитиса, тако и у групи пацијената са *CRSwNP*; постоји позитивна корелација између концентрација *CCL5*, *CCL24* и *ECP* у носном секрету и клиничких карактеристика болести и код пацијената са алергијским ринитисом и код оних са *CRSwNP* ; концентрације наведених медијатора у носном секрету статистички значајно више у групи пацијената са дијагнозом алергијског ринитиса и *CRSwNP* у односу на здраве испитанике; постоји негативна корелација између концентрације *CC 16* са једне стране и *CCL5*, *CCL24* и *ECP* са друге стране; примена интраназалних кортикостероида доводи до повећања концентрације *CC 16* у носном секрету, као и до побољшања симптома и локалног налаза и у групи са алергијским ринитисом и у групи са *CRSwNP*; лечење кортикостероидима значајно редукује концентрације *CCL5*, *CCL24* и *ECP* у носном секрету у свим групама испитаника.

Задаци истраживања су у складу са постављеним циљевима и хипотезама .

МАТЕРИЈАЛ И МЕТОДЕ ИСТРАЖИВАЊА су идентични са наведеним у пријави докторске тезе. Кандидат је прецизно описао методологију истраживања која је спроведена као проспективна, кохортна, клиничка опсервациона студија. Истраживање је обухватило осамдесеторо болесника, од тога двадесеторо испитаника са сезонским, двадесеторо са перенијалним алергијским ринитисом, двадесеторо неалергичних и двадесеторо алергичних пацијената са хроничним полипозним риносинузитисом. Контролну групу је чинило двадесеторо испитаника са клинички здравом носном слузницом. Основни критеријуми за укључење у студију је била дијагноза алергијског ринитиса, односно дијагноза хроничног полипозног риносинузитиса. Тестирање на алергије је било спроведено код свих испитаника и то на 18 стандардних инхалационих алергена. Резултат кожног -прик теста сматран је позитивним уколико је бар једна од индурација на површини коже, за 3 мм шира у односу на негативну контролу. Дијагноза алергијског ринитиса је постављана у складу са ARIA (Allergic Rhinitis and its Impact on Asthma) смерницама.

Дијагноза хроничног риносинузитиса са носним полипима, је постављена на основу анамнезе, клиничке слике, физикалног прегледа (предње и задње риноскопије), ендоскопије носа и компјутеризоване томографије (СТ) параназалних синуса урађене у короналним и аксијалним пресецима, а у складу са важећим Водичем који је објавило Европско ринолошко удружење (European Rhinologic Society). Критеријуми за искључивање из студије били су: млађи од 18 година, дијабетичари, особе са болестима дигестивног тракта и јетре, труднице, опструкција доњих дисајних путева, бронхијална астма, преосетљивост на нестероидне антиинфламаторне аналгетике, антрохоанални полипи, цистична фиброза, примарна цилијарна дискинезија, акутне респираторне инфекције, лечење системским и интраназалним кортикостероидима, антибиотицима и антихистаминицима у периоду унутар три недеље пре започињања клиничке студије. Зависне варијабле које су мерене у студији су: носни симптом скор, ендоскопски скор, концентрације медијатора запаљења у носном секрету и број еозинофила у слузници носа. Сви пацијенти са хроничним запаљењима слузнице носа су добијали по једну дневну дозу флутиказон фууроата (два јутарња спреја у дози од 55 μ g у сваку носницу).

С обзиром на чињеницу да смо имали више од две испитиване групе, дистрибуција испитаника према полу и старости рађена је применом *Analysis of Variance - ANOVA* теста (тест анализе варијансе). Након провере нормалности података Колмогоров-Смирнов (*Kolmogorov-Smirnov*) и Шапиров-Вилк (*Shapiro-Wilk*) тестом, примењена је непараметарска статистика. За поређење између група користили смо Крускал-Валисов тест (*Kruskal-Wallis*), којим је доказана статистичка значајност између испитиваних група, мада није било јасно између којих. Након тога је био примењен Ман-Витни тест (*Mann-Whitney test*) за парна поређења међу групама, а након тога и Данов накнадни тест (*Dunn's post hoc test*), којим је тачно показано међу којим од испитиваних група је била присутна статистичка значајност. Парна поређења унутар група (пре и након кортикостероидне терапије) вршена су коришћењем непараметарског Вилкоксеновог (*Wilcoxon*) теста.

Разлике су сматране статистички значајним уколико је *p* вредност била мања од 0,05. За процену статистичке повезаности међу различитим параметрима користили смо Спирман-ов (*Spearman*) тест корелације. Резултате смо представили као средњу вредност \pm стандардна девијација ($X \pm SD$). Сви статистички прорачуни су урађени коришћењем *SPSS software* (*Statistical Package for the Social Sciences, version 17.0, SPSS Inc., Chicago, USA*).

РЕЗУЛТАТИ ИСТРАЖИВАЊА су детаљно и јасно приказани помоћу 14 графикана и 14 табела. Доказано је значајно клиничко побољшање након локалне примене кортикостероида како код пацијената са алергијским ринитисом (перенијалним АР) тако и код пацијената са хроничним риносинуситисом. Такође, нађена је статистички значајна разлика у концентрацијама медијатора запаљења у носном секрету, након примене интраназалних кортикостероида. Концентрације СС 16, измерене у носном секрету пацијената са перенијалним АР показале су негативну статистичку корелацију у поређењу са медијатором *CCL24*. Са друге стране, концентрације *RANTES*, *CCL24* и *ECP* показале су бољу корелацију са бројем еозинофила у ткиву носне слузнице. На основу оваквих резултата, закључак је да је, СС 16 бољи показатељ реакције слузнице носа на примењену терапију, као и бољи индикатор функционалног опоравка носне слузнице, док су *RANTES*, *CCL24* и *ECP* бољи индикатори хроничног запаљења.

У поглављу **ДИСКУСИЈА**, аутор је анализирао добијене резултате и упоређивао их са литературним подацима из ове области, а који су објављени у стручној литератури. Коментари добијених резултата су прегледно и јасно изнети те нам пружају нове

смернице у погледу лечења алергијског ринитиса и хроничног риносинузитиса интраназалном кортикостероидном терапијом у свакодневној клиничкој пракси.

На основу предходно изнетих чињеница, комисија сматра да завршена докторска дисертација под називом „ **Значај одређивања медијатора инфламације у носном секрету за процену интензитета запаљења у алергијском ринитису** ”, по обиму и квалитету израде у потпуности одговара пријављеној и одобреној теми дисертације.

2.5. Научни резултати докторске дисертације

Најзначајнији резултати истраживања су садржани у следећим закључцима:

1. Концентрације *CCL5 (RANTES)* и *ECP*, измерене у носном секрету су више у пацијената са CRSwNP у односу на пацијенте са AP, док су вредности медијатора *CC 16* и *CCL24* биле нешто више код пацијената са AP.
2. Концентрације *CCL5*, *CCL24* и *ECP* су више у пацијената са перенијалним AP у односу на пацијенте са сезонским AP, док је *CC16* виши код пацијената са сезонским ринитисом.
3. Иако није нађена значајна инверзна корелација, редукција броја еозинофила се показала код све четири групе пацијената и била је удружена са опоравком у продукцији *CC16* након кортикостероидног третмана код перзистентних форми запаљења.
4. Иако није нађена статистички значајна позитивна корелација, уочена је повезаност између концентрација *CCL5*, *CCL24* и *ECP* у носном секрету и клиничких карактеристика болести код пацијената са перенијалним AP и CRSwNP.
5. Концентрације наведених медијатора у носном секрету су статистички значајно више у групи пацијената са дијагнозом AR и CRSwNP у односу на здраве испитанике.
6. Постоји негативна корелација између концентрације *CC 16* и *CCL24* измерених у носном секрету пацијената са перенијалним AP.
7. Примена интраназалних кортикостероида доводи до повећања концентрације *CC16* у носном секрету, као и до побољшања симптома и локалног налаза у групи пацијената са перенијалним AP и код алергичних и неалергичних пацијената са CRSwNP.
8. Лечење интраназалним кортикостероидом значајно је редуковало концентрације *CCL5*, *CCL24* и *ECP* у носном секрету пацијената са перенијалним AP, као и код неалергичних и алергичних са CRSwNP.

9. Док су *RANTES*, *CCL24* и *ECP* поуздани маркери за процену интензитета хроничног запаљења у носној слузници, *CC16* је поуздан маркер за процену њеног функционалног опоравка.

2.6. Примењивост и корисност резултата у теорији и пракси

Презентовани резултати доприносе бољем разумевању патофизиологије , механизма еозинофиличне инфлтрације и инфламације слузнице носа како у алергијском ринитису тако и код оболелих од хроничног полипозног риносинуситиса . Одређивањем концентрација *CC 16*, као и других медијатора запаљења у носном секрету, пре свега оних који регулишу функцију еозинофила (*CCL5* или *CCL24*) или су маркери њихове активности (*ECP*), можемо добити доста драгоцених података о стању хроничног запаљења носне слузнице. Са друге стране, мерењем њихових концентрација пре и после примене локалне кортикостероидне терапије добијамо податке о реакцији слузокоже носа на дату терапију и ефикасности истих.

Од ових резултата се може очекивати велики помак у контроли и лечењу хроничне инфламације слузнице носа .

2.7. Начин презентирања резултата научној јавности

Резултати овог истраживања су делимично објављени као оригинално истраживање у врхунском међународном часопису (**M21**): **Špadijer-Mirković C, Perić A, Belić B, Vojvodić D.** Clara cell protein 16 and eosinophil cationic protein production in chronically inflamed sinonasal mucosa. *Int Forum Allergy Rhinol* 2016; 6(5):529-36.

Такође ови резултати су приказани на 1. Симпозијуму ринолога Србије 08.04.2016 године у Београду. Планирано је и да остали резултати овог истраживања буду публиковани у неком од истакнутих часописа од међународног значаја и буду приказани на научним и стручним скуповима у виду усмене презентације.

ЗАКЉУЧАК

Комисија за оцену и одбрану завршене докторске дисертације кандидата Цвете Шпадијер- Мирковић под називом „ **Значај одређивања медијатора инфламације у носном секрету за процену интезитета запаљења у алергијском ринитису**”, на основу свега наведеног оцењује, да је истраживање у оквиру дисертације адекватно постављено и спроведено. Комисија сматра да докторска дисертација кандидата Цвете Шпадијер - Мирковић, урађена под менторством доц. др Александра Перића, има оригинални научни и практични значај у разумевању значаја инфламаторног одговора и лечењу како алергијског ринитиса тако и хроничног риносинуситиса.

На основу свега изложеног Комисија предлаже Наставно-научном већу Факултета Медицинских наука Универзитета у Крагујевцу, да докторска дисертација под називом,, **„Значај одређивања медијатора инфламације у носном секрету за процену интезитета запаљења у алергијском ринитису”**, кандидата Цвете Шпадијер -Мирковић буде позитивно оцењена и одобрена за јавну одбрану.

ЧЛАНОВИ КОМИСИЈЕ:

проф. др Љубица Живић, ванредни професор Факултета медицинских наука Универзитета у Крагујевцу за ужу научну област Оториноларингологија, председник.

проф. др Ненад Балетић, ванредни професор Медицинског факултета ВМА Универзитета одбране у Београду за ужу научну област Оториноларингологија, члан.

проф. др Данило Војводић, редовни професор Медицинског факултета ВМА Универзитета одбране у Београду за ужу научну област Имунологија, члан.

проф. др Олгица Гајовић, ванредни професор Факултета медицинских наука Универзитета у Крагујевцу за ужу научну област Инфективне болести, члан

доц. др Јелена Пантић, доцент Факултета медицинских наука Универзитета у Крагујевцу за ужу научну област Микробиологија и имунологија, члан.

У Крагујевцу, 2016.