

УНИВЕРЗИТЕТ У КРАГУЈЕВЦУ
ФАКУЛТЕТ МЕДИЦИНСКИХ НАУКА
НАСТАВНО-НАУЧНОМ ВЕЋУ

УНИВЕРЗИТЕТ У КРАГУЈЕВЦУ
ФАКУЛТЕТ МЕДИЦИНСКИХ НАУКА

23. 01. 19

05	676/4-4	
----	---------	--

1. Одлука Већа за медицинске науке Универзитета у Крагујевцу

Одлуком Већа за медицинске науке Универзитета у Крагујевцу, број IV-03-1005/26 од 11.12.2018. године, именовани су чланови комисије за оцену научне заснованости теме докторске дисертације кандидата **Анице Петковић** под називом:

„Ефекти директних оралних антикоагуланаса на глобалну хемостазу код пацијената са атријалном фибрилацијом“

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

1. **Проф. др Марко Фолић**, ванредни професор Факултета медицинских наука Универзитета у Крагујевцу за ужу научну област *Клиничка фармација*, председник;
2. **Проф. др Милоје Томашевић**, ванредни професор Факултета медицинских наука Универзитета у Крагујевцу за ужу научну област *Интерна медицина*, члан;
3. **Проф. др Слободан Обрадовић**, редовни професор Медицинског факултета Војномедицинске академије Универзитета одбране у Београду 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 **Аница Петковић** 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

Аница Петковић је рођена 11.10.1992. године у Крагујевцу. Основну школу „Мома Станојловић“ и Прву крагујевачку гимназију завршила у Крагујевцу са одличним успехом. Уписала је Факултет медицинских наука у Крагујевцу-Интегрисане академске студије за магистра фармације 2011. године где је и дипломирала у јулу 2016. године са просечном оценом 9,63 (девет и 63/100). Стручни испит за магистра фармације положила је у марту 2017. године пред комисијом Министарства здравља Републике Србије. Студент је треће године Докторских академских студија на Факултету медицинских наука, Универзитета у Крагујевцу, изборно подручје Експериментална и примењена физиологија са спортском медицином. Положила је све програмом предвиђене испите на прве две године докторских академских студија као и усмени докторски испит са оценом 10 (десет). Као стални члан истраживачке групе, активно се бави научно-истраживачким радом у Лабораторији за кардиоваскуларну физиологију Института за физиологију Факултета медицинских наука Универзитета у Крагујевцу од 2012. године. Од октобра 2016. године ангажована је као фацитатор, а од децембра 2016. године као сарадник у настави на студијском програму Интегрисане академске студије фармације на Факултету медицинских наука Универзитета у Крагујевцу за ужу научну област Фармацеутска технологија, од када активно учествује у настави.

2.2. Наслов, предмет и хипотезе докторске тезе

Наслов: “Ефекти директних оралних антикоагуланаса на глобалну хемостазу код пацијената са атријалном фибрилацијом“

Предмет: Испитивање ефеката директних оралних антикоагуланаса (ДОАК) на глобалну хемостазу код пацијената са атријалном фибрилацијом (АФ).

Хипотезе:

1. Терапија ДОАК утиче на хемостазу што потенцијално може довести до смањеног ризика од настанка мозданог удара као последице хиперкоагулационог стања код пацијената са атријалном фибрилацијом
2. Тестови глобалне хемостазе (Ендогени Тромбински Потенцијал - ЕТП, Калибрисана Аутоматозована Тромбографија - КАТ, Укупни Хемостатски Потенцијал - УХП) погодни су за мониторинг терапије ДОАК код пацијената са атријалном фибрилацијом
3. Постоји корелација између стварне плазма концентрације ДОАК код пацијената са атријалном фибрилацијом и тестова глобалне хемостазе (ЕТП, КАТ, УХП), коагулационих есеја (протромбинско време (енгл: *prothrombin time* - РТ), активирано парцијално тромбoplastинско време (енгл: *activated partial thromboplastin time* - аРТТ), као и клиничких карактеристика пацијената са атријалном фибрилацијом
4. Резултати тестова глобалне хемостазе (ЕТП, КАТ, УХП) и коагулационих тестова (РТ, аРТТ) прате клиничке карактеристике пацијената са АФ на терапији ДОАК
5. Глобалним тестовима хемостазе се може обезбедити брз, једноставан и ефикасан метод за праћење хемостазе код пацијената са АФ на терапији ДОАК.

2.3. Испуњеност услова за пријаву теме докторске дисертације

Кандидат, Аница Петковић, објавио је рад у целини у часопису категорије М21, у коме је први аутор, чиме је стекла услов за пријаву теме докторске дисертације.

- **Petkovic AM, Jakovljevic VL, Bradic JV, Jeremic JN, Jeremic NS, Nikolic Turnic TR, Jovicic NU, Rosic VZ, Srejsovic IM, Zivkovic VI.** The Effects of Potassium Cyanide on the Functional Recovery of Isolated Rat Hearts after Ischemia and Reperfusion: The Role of Oxidative Stress. *Oxid Med Cell Longev.* 2018;2018:5979721.

2.4. Преглед стања у подручју истраживања

Једна од најозбиљнијих аритмија која се карактерише дуготрајним поремећајем ритма са неконтролисаном активношћу преткомора је атријална фибрилација (АФ). АФ је удружена са повећаним дугорочним ризиком од тромбоемболијских компликација сходно

неправилним преткоморским контракцијама и стази крви, што последично доводи до формирања преткоморског тромба. Истраживања су показала да код пацијената са АФ постоји повећање маркера тромбина и активности тромбоцита, повећање нивоа системског фибриногена, фибрина и D-димера. Повишени ниво фрагмента 1+2 у АФ осликава *in vivo* продукцију тромбина која се успешно смањује антикоагулансима.

Основни принцип за смањење ризика од тромбоемболијских компликација АФ утемељен је на примени антикоагулантне терапије. Директни орални антикоагуланси су развијени и уведени у клиничку праксу будући да варфарин има уску терапијску ширину и да је потребна честа лабораторијска контрола. Механизми којима ДОАК остварују дејство базирају се на директној инхибицији фактора Ха (ривароксабан) односно директној инхибицији тромбина (дабигатран).

2.5. Значај и циљ истраживања

Значај овог истраживања се огледа у потенцијално новим сазнањима о ефектима директних оралних антикоагуланаса код пацијената са атријалном фибрилацијом и редукцији степена ризика за настанак тромбоемболијских компликација код ових пацијената.

Примарни циљ ове студије базира се на процени места, улоге и значаја тестова глобалне хемостазе (ЕТП, КАТ, УХП) у одређивању хемостатског потенцијала код пацијената са АФ на терапији ДОАК.

У складу са овим општим циљем постављени су и следећи специфични циљеви:

1. Испитати да ли су тестови глобалне хемостазе (ЕТП, КАТ, УХП) погодни за праћење терапије ДОАК код пацијената са атријалном фибрилацијом;
2. Испитати да ли стварне плазма концентрације ДОАК корелирају са тестовима глобалне хемостазе (ЕТП, КАТ, УХП), коагулационим есејима (РТ, аРТТ) и клиничким карактеристикама пацијената са атријалном фибрилацијом;
3. Испитати повезаност тестова глобалне хемостазе (ЕТП, КАТ, УХП) и коагулационих есеја (РТ, аРТТ) са клиничким карактеристикама пацијената са атријалном фибрилацијом који су на терапији ДОАК;

4. Обезбедити глобални хемостатски метод који ће уштедети време и бити погодан за коришћење у истраживачкој и рутинској лабораторији за одређивање глобалне хемостазе код пацијената са АФ на терапији ДОАК (дабигатран и ривароксабан).

2.6. Веза истраживања са досадашњим истраживањима

Приликом употребе ДОАК, рутински лабораторијски мониторинг није обавезан. Међутим, постоје стања у којима се исти препорује као што су траума, хитна операција, недавни мождани удар, старије особе, пацијенти са екстремном телесном тежином, поремећајем реналне функције, гастроинтестинални малабсорптивни поремећаји и сумњиве лек-лек интеракције. Златни стандард за одређивање плазма концентрације лека је тандемна хроматографија са масеном спектроскопијом (LC-MS/MS) која је доступна само у високо специјализованим центрима. Методе процене које су изводљиве у већини лабораторија обухватају верификацију вредности РТ-а, аРТТ-а, дилуираног тромбинског времена односно анти-IIa и анти-Xa активности. Међутим, и у доменима савремене медицине, идеалан глобални метод који може да детектује све врсте хипер- и хипокоагулабилности не постоји. У нову генерацију глобалних хемостатских тестова убрајају се ЕТП, КАТ и УХП. Глобалним тестовима се испитује могућност интеракција компоненти хемостазе односно поремећај функције одређених фактора и инхибитора. Ови тестови дају веома корисне податке, сходно чему би од великог значаја било испитати који је од њих погодан за праћење терапије ДОАК код пацијената са АФ.

2.7. Методе истраживања

2.7.1. Врста студије

Клиничка проспективна опсервациона студија пресека. Истраживање је одобрено од стране Регионалног Етичког одбора у Стокхолму.

2.7.2. Популација која се истражује

Ова клиничка студија би обухватила 150 испитаника, мушког и женског пола, који би били подељени у три групе:

I група – контролна група (50 пацијената)

II група – пацијенти са дијагностикованом атријалном фибрилацијом који су на терапији дабигатраном (50 испитаника);

III група – пацијенти са дијагностикованом атријалном фибрилацијом који су на терапији ривароксабаном (50 испитаника).

Критеријуми за укључивање су следећи: пацијенти мушког и женског пола са дијагностикованом пароксизмалном или хроничном невалвуларном атријалном фибрилацијом, пацијенти на терапији дабигатраном у дози од 110/150 mg, два пута дневно, пацијенти на терапији ривароксабаном у дози од 15/20 mg, једном дневно, пацијенти који су дали усмени и писмени пристанак.

Критеријуми за искључивање су следећи: пацијенти мушког и женског пола са дијагностикованом валвуларном атријалном фибрилацијом или другом врстом аритмије, пацијенти који су на терапији другим антикоагулансима, пацијенти који имају могуће лек-лек интеракције према сажетку карактеристика лека.

Контролну групу чинили би здрави испитаници исте старосне доби и оба пола.

2.7.3. Узорковање

Након верификације атријалне фибрилације, спровешће се узимање узорака крви ујутру, најмање 10 сати након узимања хране, приликом рутинске посете пацијената након терапије. Крв ће бити центрифугирана на 2000 g 20 минута и издвојена плазма биће замрзнута на -80°C . Придружене кардиоваскуларне болести као и медикаментозна терапија ће бити забележени.

2.7.4. Варијабле

Течном хроматографијом са масеном спектроскопијом ће се одређивати стварна плазма концентрација директних оралних антикоагуланаса (дабигатрана и ривароксабана) изражена у $\mu\text{g/L}$. Коагулационим есејима, аРТТ и РТ мериће се време потребно да се створи угрушак (у секундама). Тестовима глобалне хемостазе ће се пратити различити параметри који описују хемостатско стање пацијената: време у минутима/секундама од

додавања окидача коагулације до почетка стварања тромбина/фибрина (lag time), пик тромбина/фибрина (nmol/L или %); време постизања пика (минути/секунде); индекс брзине (ИБ), који се дефинише као ИБ [висина пика/(време до постизања пика – време до почетка стварања фибрина/тромбина)]; и површина испод криве (AUC) која се дефинише као ендогени тромбински потенцијал – ЕТП (изражен као nmol/L тромбина у минути или %) или као укупни хемостатски потенцијал - УХП. Додатни параметри од интереса су укупни фибринолитички потенцијал (УФП) односно укупни коагулацијски потенцијал (УКП). УХП и КАТ ће бити одређивани спектрофотометријски и флуориметријски, док ће се ЕТП одређивати колорифотометријски помоћу BCS® XP System Hemostasis апарата. Такође биће праћене клиничке карактеристике пацијената (гломеруларна функција бубрега, ниво креатинина).

2.7.5. Снага студије и величина узорка

Прорачун укупног узорка је заснован на резултатима претходно публикованих истраживања која су проучавала ефекте ДОАК код пацијената са атријалном фибрилацијом. За прорачун је коришћен t-тест за независни узорак, двоструко, уз претпоставку алфа грешке од 0,05 и снаге студије 0,8 (бета грешка 0,2) као и уз коришћење одговарајућег рачунарског програма. Узимајући у обзир резултате наведене студије, прорачунато је да је потребно најмање по 10 пацијената за све наведене групе, односно по 10 пацијената са дијагностикованом атријалном фибрилацијом у експерименталним групама и 10 испитаника у контролној групи.

2.7.6. Статистичка обрада података

Статистичка обрада резултата обухватиће употребу софтвера *SPSS 21.0 for Windows*:

1. За опис параметара од значаја, у зависности од њихове природе, користиће се: фреквенција, проценти, узорачка средња вредност, узорачка медијана, узорачка стандардна девијација, ранг и 95% интервали поверења.
2. За испитивање нормалности расподеле користиће се тестови *Kolmogorov-Smirnov* и *Shapiro-Wilk*, и графици: хистограм и *normal QQ plot*.
3. За тестирање разлика између параметара, у зависности од њихове природе, користиће се тестови: *Student's t*, *Mann-Whitney*, *Fisher*, једнофакторска или

двофакторска анализа варијансе. Приликом тестирања разлика између параметара, у случају постојања више подгрупа, користиће се *Bonferroni* тест.

4. За одређивање повезаности између испитиваних метода користиће се регресиона анализа. За праћење јачине и смера повезаности између испитиваних метода, користиће се коефицијенти корелације ранга: *Pearson* и *Spearman*.

2.8. Очекивани резултати докторске дисертације

Уколико се потврди радна хипотеза, у нашој студији очекујемо висок степен корелације тестова глобалне хемостазе и златног стандарда за праћење плазма концентрације ДОАК (LC-MS/MS), као и адекватну корелацију испитиваних тестова са клиничком сликом пацијената. Такође, увидеће се које методе су погодније за праћење терапије дабигатраном и ривароксабаном код пацијената са атријалном фибрилацијом.

2.9. Оквирни садржај докторске дисертације

Планирано клиничко истраживање ће дати одговоре од значаја на питања о месту и улози употребе тестова глобалне хемостазе у домену процене ефеката ДОАК, као и потенцијалним могућностима за превазилажење недостатака већ постојећих метода за праћење ефеката терапије ДОАК. Резултати истраживања ће се публиковати у релевантним међународним научним часописима са високим импакт фактором.

3. Предлог ментора

За коменторе ове докторске дисертације се предлажу проф. др Јован Антовић, ванредни професор Каролинска Института у Стокхолму (Шведска) и визитинг професор Факултета медицинских наука Универзитета у Крагујевцу, и проф. др Владимир Јаковљевић, редовни професор Факултета медицинских наука Универзитета у Крагујевцу за ужу научну област Физиологија.

Проф. др Јован Антовић и проф. др Владимир Јаковљевић поседују стручне и научне компетенције које су комплементарне са предметом истраживања и испуњавају 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 Јована Антовића који су у вези са темом докторске дисертације:

1. Bremme K, Soutari N, **Antovic JP**, Wramsby M, Chaireti R. Increasing thrombin generation during IVF treatment is correlated to hormonal changes, but not to TFPI. *Thromb Res.* 2018;172:51-53.
2. Bowyer AE, Duncan EM, **Antovic JP**. Role of chromogenic assays in haemophilia A and B diagnosis. *Haemophilia.* 2018 Jul;24(4):578-583.
3. Ljungkvist M, Berndtsson M, Holmström M, Mikovic D, Elezovic I, **Antovic JP**, Zetterberg E, Berntorp E. Correlation to FVIII:C in Two Thrombin Generation Tests: TGA-CAT and INNOVANCE ETP. *Mediterr J Hematol Infect Dis.* 2017;9(1):e2017064.
4. Antovic A, Norberg EM, Berndtsson M, Rasmuson A, Malmström RE, Skeppholm M, **Antovic J**. Effects of direct oral anticoagulants on lupus anticoagulant assays in a real-life setting. *Thromb Haemost.* 2017;117(9):1700-1704.
5. Al-Aieshy F, Malmström RE, **Antovic J**, Pohanka A, Rönquist-Nii Y, Berndtsson M, Al-Khalili F, Skeppholm M. Clinical evaluation of laboratory methods to monitor exposure of rivaroxaban at trough and peak in patients with atrial fibrillation. *Eur J Clin Pharmacol.* 2016;72(6):671-9.
6. Šinigoj P, Malmström RE, Vene N, Rönquist-Nii Y, Božič-Mijovski M, Pohanka A, **Antovic JP**, Mavri A. Dabigatran Concentration: Variability and Potential Bleeding Prediction In "Real-Life" Patients With Atrial Fibrillation. *Basic Clin Pharmacol Toxicol.* 2015;117(5):323-9.

Радови проф. др Владимира Јаковљевића који су у вези са темом докторске дисертације:

1. Bradic J, Dragojlovic Ruzicic R, Jeremic J, Petkovic A, Stojic I, Nikolic T, Zivkovic V, **Srejovic I**, Radovanovic D, Jakovljevic VL. Comparison of training and detraining on redox state of rats: gender specific differences. *Gen Physiol Biophys.* 2018;37(3):285-297.
2. Simonovic N, **Jakovljevic V**, Jeremic J, Finderle Z, Srejovic I, Nikolic Turnic T, Milosavljevic I, Zivkovic V. Comparative effects of calcium and potassium channel

modulators on ischemia/reperfusion injury in the isolated rat heart. Mol Cell Biochem. 2018; doi: 10.1007/s11010-018-3384-y.

3. Tepić S, Petković A, Srejić I, Jeremić N, Zivković V, Loncarević S, Bradić J, **Jakovljević V**, Zivković M. Impact of hyperbaric oxygenation on oxidative stress in diabetic patients. Undersea Hyperb Med. 2018;45(1):9-17.
4. Veselinovic M, Vasiljevic D, Vucic V, Arsic A, Petrovic S, Tomic-Lucic A, Savic M, Zivanovic S, Stojic V, **Jakovljevic V**. Clinical Benefits of n-3 PUFA and α -Linolenic Acid in Patients with Rheumatoid Arthritis. Nutrients. 2017;9(4). pii: E325.
5. Koprivica Z, Djordjevic D, Vuletic M, Zivkovic V, Barudzic N, Andjelkovic N, Djuric D, Iric-Cupic V, Krkeljic J, **Jakovljevic V**. Von Willebrand factor and oxidative stress parameters in acute coronary syndromes. Oxid Med Cell Longev. 2011;2011:918312.

4. Научна област дисертације

Медицина. Изборно подручје: Експериментална и примењена физиологија за спортском медицином

5. Научна област чланова комисије

1. **Проф. др Марко Фолић**, ванредни професор Факултета медицинских наука Универзитета у Крагујевцу за ужу научну област *Клиничка фармација*, председник;
2. **Проф. др Милоје Томашевић**, ванредни професор Факултета медицинских наука Универзитета у Крагујевцу за ужу научну област *Интерна медицина*, члан;
3. **Проф. др Слободан Обрадовић**, редовни професор Медицинског факултета Војномедицинске академије Универзитета одбране у Београду за ужу научну област *Интерна медицина*, члан.

ЗАКЉУЧАК И ПРЕДЛОГ КОМИСИЈЕ

На основу досадашњег научно-истраживачког рада кандидат, Аница Петковић, 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 Анице Петковић, под називом „Ефекти директних оралних антикоагуланаса на глобалну хемостазу код пацијената са атријалном фибрилацијом“ и одобри њену израду.

ЧЛАНОВИ КОМИСИЈЕ

Проф. др Марко Фолић

Ванредни професор Факултета медицинских наука Универзитета у Крагујевцу
за ужу научну област *Клиничка фармација*, председник



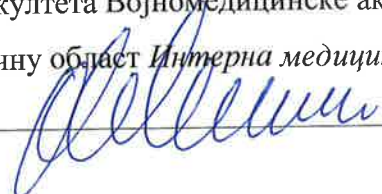
Проф. др Милоје Томашевић

Ванредни професор Факултета медицинских наука Универзитета у Крагујевцу
за ужу научну област *Интерна медицина*, члан



Проф. др Слободан Обрадовић

Редовни професор Медицинског факултета Војномедицинске академије
Универзитета одбране у Београду за ужу научну област *Интерна медицина*, члан



У Крагујевцу,

18.12.2018. године