

NAUČNOM VEĆU MEDICINSKOG FAKULTETA UNIVERZITETA U BEOGRADU

Odlukom Naučnog veća Medicinskog fakulteta u Beogradu od 06.10.2011. godine za ocenu doktorske disertacije pod nazivom „Ultrazvučni pregled perifernih sinovijalnih zglobova u proceni aktivnosti reumatoidnog artritisa“, kandidata mr. sci. dr Gorana Radunovića, specijaliste interne medicine, određena je komisija u sastavu:

1. Prof. dr Radmila Petrović – Institut za reumatologiju, Medicinski fakultet Univerziteta u Beogradu
2. Prof. dr Roksanda Stojanović – Institut za reumatologiju, Medicinski fakultet Univerziteta u Beogradu
3. Prof. dr Aleksandra Stanković – Medicinski fakultet Univerziteta u Nišu

Nakon detaljnog pregleda priložene dokumentacije, konsultacija sa mentorom i kandidatom, a prema kriterijumima za ocenu doktorske disertacije, članovi komisije Naučnom veću Medicinskog fakulteta u Beogradu jednoglasno podnose sledeći

IZVEŠTAJ

A. Prikaz sadržaja doktorske disertacije

Doktorska disertacija pod nazivom „Ultrazvučni pregled perifernih sinovijalnih zglobova u proceni aktivnosti reumatoidnog artritisa“ sadrži sedam poglavlja: Uvod, Cilj rada i radna hipoteza, Metode istraživanja, Rezultati, Diskusija, Zaključci i Literatura. Disertacija je napisana na 284 strane, sadrži 55 tabela, 104 grafikona i 3 slike. U poslednjem poglavlju je pregled literature koja je citirana u doktorskoj disertaciji i sadrži 420 navoda.

UVOD se sastoji iz dva dela. U prvom delu uvoda kandidat je opisao fizičke osobine ultrazvuka, najznačajnije karakteristike ultrazvučnih aparata, dijagnostički potencijal ultrazvuka (UZ) u B-modu i Doppler metodom. Nakon toga detaljno je opisana primena UZ kod muskuloskeletnih oboljenja, sa posebnim osvrtom na UZ metod dijagnostike reumatoidnog artritisa (RA), vizualizaciju strukturnih oštećenja i sveobuhvatan opis dijagnostičkog potencijala za procenu aktivnosti RA. Drugi deo uvoda odnosi se na epidemiologiju i etiologiju RA, detaljno opisanu patogenezu RA sa ulogom autoantitela, ćelijskog imuniteta, citokina T limfocita, makrofaga i fibroblasta, supresivnih citokina i antagonista citokina, sa opisom patoloških procesa u reumatoidnoj sinoviji, kao i mehanizama oštećenja tkiva u RA. Posebno je opisana dijagnostika RA sa prikazom aktuelnih klasifikacionih kriterijuma Evropske lige za borbu protiv reumatizma (EULAR) i Američkog koledža reumatologije (ACR) iz 2010. godine, kao i složenog puta do postavljanja dijagnoze bolesti u vidu savremenog dijagnostičkog algoritma za ovu bolest. Posebna pažnja posvećena je laboratorijskoj dijagnostici, a potom i primeni konvencionalnih metoda radiografske vizualizacije, kao i savremenih metoda kao što su magnetska rezonancija (MRI) i muskuloskeletni UZ u proceni ozbiljnosti strukturnih oštećenja perifernih zglobova i time u određivanju evolutivnosti RA. Istaknuta je uloga muskuloskeletnog UZ kao jeftine, lako dostupne i bezbedne metode vizuelizacije u odnosu na ostale dijagnostičke metode. Detaljno su opisani najaktuelniji pokazatelji aktivnosti RA, posebno kompozitni pokazatelji, koji se najčešće

upotrebljavaju u multicentričnim randomizovanim ispitivanjima, kao i najvalidniji pokazatelji strukturnih oštećenja.

CILJ RADA je jasno definisan – da se ispita klinički značaj i upotrebljivost novog pokazatelja aktivnosti RA (pouzdanost, validnost i osetljivost na promene), koji se zasniva na nalazima muskuloskeletnog ultrazvuka u B-modu i Power Doppler (PD) metodom. Taj cilj obuhvatio je i procenu kliničke upotrebljivosti potpuno novog, kompozitnog ultrazvučnog pokazatelja aktivnosti RA: Ultrazvučnog indeksa aktivnosti bolesti – UZDAS.

Radi ostvarenja navedenog cilja postavljeni su sledeći zadaci:

- 1) Ispitivanje pouzdanosti ultrazvučnog nalaza hipertrofije sinovije i/ili izliva u zglobovima bolesnika sa RA i PD nalaza semikvantitativnom metodom u poređenju sa nalazima broja osetljivih i broja otečenih zglobova (klinički pregled) na osnovu kappa koeficijenta slaganja nalaza 2 nezavisna ispitivača koji nisu imali uvid u ostale rezultate bolesnika.
- 2) Ispitivanje pouzdanosti UZDAS na osnovu određivanja intraklasnih koeficijenata korelacije između rezultata dobijenih kada UZ pregled urade 2 nezavisna „slepa“ ispitivača.
- 3) Ispitivanje konstruktivne validnosti UZDAS na osnovu korelacije sa postojećim jednostavnim i kompozitnim pokazateljima aktivnosti bolesti.
- 4) Ispitivanje značaja UZDAS za izdvajanje grupe bolesnika sa lošijom prognozom u pogledu strukturnih oštećenja (prediktivne validnosti), na osnovu korelacije ovog kompozitnog indeksa sa pokazateljima funkcijskog statusa, rezultatima upitnika za procenu kvaliteta života, kao i sa pokazateljima strukturnog oštećenja na radiografijama (RTG), MRI i UZ.
- 5) Ispitivanje konstruktivne validnosti jednostavnih ultrazvučnih pokazatelja aktivnosti RA.
- 6) Procena „dijagnostičke vrednosti“ ultrazvučnog pregleda u B-modu i PD na osnovu određivanja površine ispod ROC krive kada su kao „zlatni standard“ upotrebljeni MRI nalazi zglobnog izliva i/ili hipertrofije sinovije.
- 7) Procena senzitivnosti i specifičnosti nalaza izliva muskuloskeletnog UZ u B-modu i PD modu, kao i nalaza otoka zglobova fizičkim pregledom kod bolesnika sa RA, kada su kao „zlatni standard“ upotrebeni nalazi izliva na MRI šaka.
- 8) Ispitivanje osetljivosti na promene UZDAS tokom šestomesečnog praćenja bolesnika sa RA na osnovu poređenja sa ostalim kompozitnim pokazateljima aktivnosti bolesti.

RADNA HIPOTEZA je jasno postavljena – da će novi ultrazvučni kompozitni pokazatelj aktivnosti RA (UZDAS) vernije odgovarati stvarnoj aktivnosti bolesti i imati veću upotrebljivost (validnost, pouzdanost i osetljivost na promene) za procenu budućih strukturnih oštećenja u odnosu na prihvaćene jednostavne, složene i kompozitne indekse aktivnosti RA.

Poglavlje **METODE ISTRAŽIVANJA** sadrži kriterijume uključenja i isključenja ispitanika, opisuje način izbora ispitanika i pripadnika kontrolne grupe, daje detaljan opis metodologije UZ pregleda i izračunavanja UZ pokazatelja aktivnosti, uključujući predlog novog UZ kompozitnog pokazatelja aktivnosti RA. U poglavlju je prikazan savremeni način određivanja standardnih jednostavnih, složenih i kompozitnih pokazatelja aktivnosti RA, predstavljeni su upitnici za procenu funkcijskog stanja i kvaliteta života bolesnika sa RA. Pored toga, u ovom poglavlju detaljno je opisana primenjena metodologija za određivanje najznačajnijih pokazatelja strukturnog oštećenja zglobova (pomoću RTG, UZ i MRI) kod bolesnika sa RA. Evaluacija podataka i statistička analiza izvršeni su na adekvatan način u potpunosti. Normalna distribucija kvantitativnih podataka testirana je pomoću Kolmogorov-Smirnovljevog testa. Podaci skalarnog

tipa koji su pokazali normalnu distribuciju prikazani su srednjim vrednostima, standardnim devijacijama i rasponom. Kategorijski podaci koji pripadaju nominalnoj skali analizirani su pomoću hi-kvadrat testa i po potrebi na osnovu Fišerovog testa tačne verovatnoće nulte hipoteze. Za procenu slaganja 2 nezavisna ispitivača upotrebljena je kappa statistika, dok je za procenu slaganja nalaza varijabli na kontinuiranoj skali upotrebljen intraklasni koeficijent korelacije. Za procenu dijagnostičke vrednosti pokazatelja i testova upotrebljeno je izračunavanje površine ispod Receiver Operating Characteristics (ROC) krive. Analiza povezanosti podataka koji su pripadali kontinuiranoj skali sa normalnom ili približno normalnom distribucijom obavljena je izračunavanjem Pearsonovog koeficijenta linearne korelacije i parametara linearne regresije. Razlike u između grupa bolesnika sa različitim ishodima sa ciljem procene osetljivosti pokazatelja na promene testirane su Studentovim t testom za nezavisne uzorke, jednostrukom analizom varijanse, Mann-Whitney testom i Kruskal-Wallisovim testom. Razlike unutar grupa tokom praćenja testirane su Studentovim t testom za zavisne uzorke, Wicoxonovim testom ekvivalentnih parova i Friedmanovim testom, a ukoliko se radilo o podacima na nominalnoj skali upotrebljen je McNemarov test.

REZULTATI su prikazani u vidu 49 tabela i 104 grafikona uz propratni tekst, čiji se sadržaj podudara sa podacima u tabelama i grafikonima.

U poglavlju **DISKUSIJA** rezultati istraživanja su na sveobuhvatan način komentarisani i upoređeni sa podacima iz najnovije medicinske literature, pri čemu se zapaža saglasnost rezultata ove doktorske disertacije sa nalazima većine drugih autora koji su se bavili istim problemom.

U poglavlju **ZAKLJUČCI** navedeni su najznačajniji zaključci koji su u potpunosti u skladu sa dobijenim rezultatima i navedenim ciljevima istraživanja.

U poglavlju **LITERATURA** navedeno je 420 referenci koje su citirane na osnovu redosleda pojavljivanja u tekstu vankuverskim stilom.

B. Opis postignutih rezultata

Ispitivanje je obuhvatilo 90 bolesnika sa potvrđenom dijagnozom RA na osnovu EULAR/ACR kriterijuma i 30 zdravih, asimptomatskih osoba (asimptomatske kontrole). Pripadnici ispitivane grupe praćeni su tokom 6 meseci lečenja, procenjivana im je aktivnost bolesti na više različitih načina od strane 2 nezavisna ispitivača 3 puta tokom 6 meseci, u 3 navrata im je urađan detaljan UZ pregled većeg broja perifernih zglobova takođe od strane 2 nezavisna ispitivača, praćeni su najvažniji dijagnostički markeri RA i laboratorijski pokazatelji aktivnosti bolesti, kao i promene na radiografijama šaka i stopala, koje su ocenjivane Sharp-Genantovom metodom. Slučajno odabranoj podgrupi od 25 bolesnika urađen je MRI pregled šaka, koji je poslužio za ocenu ranih strukturnih promena i kao „zlatni standard“ u proceni senzitivnosti i specifičnosti fizičkog i ultrazvučnog nalaza na perifernim sinovijalnim zglobovima. Novi UZ pokazatelj UZDAS pokazao je značajno veću pouzdanost od Indeksa aktivnosti bolesti (DAS28), jer su varijacije nalaza 2 nezavisna ispitivača kod ultrazvučnog pokazatelja bile manje nego kod kompozitnog indeksa aktivnosti dobijenog kliničkim pregledom. Konstruktivna validnost UZDAS, procenjena na osnovu pozitivne korelacije sa kliničkim pokazateljima aktivnosti reumatoidnog artritisa, bila je znatno snažnija od povezanosti nalaza jednostavnih ultrazvučnih pokazatelja aktivnosti bolesti sa istim kliničkim pokazateljima. UZDAS je takođe

demonstrirao umerenu pozitivnu linearnu povezanost sa istorijskim, aktuelnim i budućim pokazateljima strukturnih oštećenja u RA. Takva povezanost bila je prisutna prilikom upotrebe više različitih metoda vizualizacije (RTG; UZ i MRI) i bila je snažnija od iste povezanosti DAS28 i jednostavnih ultrazvučnih pokazatelja aktivnosti bolesti. Postojeće prednosti UZDAS u odnosu na DAS28 objašnjene su kao posledica veće senzitivnosti i specifičnosti ultrazvuka u otkrivanju izliva, odnosno hipertrofije sinovije, od otkrivanja otoka zglobova prilikom kliničkog pregleda, koji je sastavni deo DAS28. Tome je doprinosila i veća pouzdanost ultrazvučnih nalaza u B-modu i PD modu od nalaza palpatorne osetljivosti i otoka perifernih zglobova prilikom kliničkog pregleda. Tokom šestomesečnog praćenja osetljivost na promene koju je pokazao UZDAS bila je slična kao kod DAS28. Na osnovu merenja površine ispod ROC krive, UZDAS je pokazao bolju diskriminativnu sposobnost za izdvajanje bolesnika kod kojih je došlo do značajnog smanjivanja aktivnosti bolesti u odnosu DAS28, kada je kao kriterijum niske aktivnosti upotrebljen ACR20 terapijski odgovor.

Na osnovu prikazanih rezultata novi ultrazvučni pokazatelj aktivnosti RA – UZDAS predstavlja značajno poboljšanje trenutno najvalidnijeg kompozitnog pokazatelja – Indeksa aktivnosti bolesti (DAS28). UZDAS može imati veliki klinički značaj za precizno praćenje aktivnosti RA, zato što je pouzdaniji od DAS28, pokazuje snažniju pozitivnu povezanost sa budućim strukturnim promenama od DAS28 i time bolju prediktivnu validnost u pogledu buduće pojave definitivnih strukturnih promena. U doktorskoj disertaciji formulisana je pretpostavka da ukoliko bolesnike lečimo prateći vrednosti UZDAS da će oni najverovatnije imati manje strukturnih promena na perifernim zglobovima u budućnosti, nego ako se aktivnost bolesti prati pomoću dosadašnjih pokazatelja aktivnosti, među kojima i DAS28.

C. Uporedna analiza rezultata kandidata sa rezultatima literature

Rezultati istraživanja kandidata mr. sci. med. dr Gorana Radunovića su u saglasnosti sa rezultatima do sada objavljenih novijih ispitivanja merenja aktivnosti RA uz pomoću UZ (Scheel AK i saradnici, Naredo E i saradnici, Koski JM i saradnici, Sokka T i Pincus T, Cheung P i saradnici, Dougados M i saradnici).

U doktorskoj disertaciji DAS28 je pokazao umereno visoku pouzdanost (ICC od 0,82 do 0,92), odnosno odlično slaganje nalaza 2 nezavisna ispitivača. Druge studije ispitivale su „unutrašnju pouzdanost“ DAS28 i pouzdanost uzastopnih nalaza istog ispitivača, kao drugi vid „spoljašnje pouzdanosti“. Prema rezultatima drugih istraživača, ICC za DAS28 bio je od 0,60 do 0,73 kada se ispituje unutrašnja pouzdanost, od 0,89 do 0,92 kada se ispituju varijacije nalaza istih ispitivača i oko 0,91 kada se porede nalazi lekara i obučanih medicinskih sestara što je u odličnoj saglasnosti sa rezultatima doktorske disertacije. Pouzdanost UZDAS, procenjena takođe na osnovu UZ nalaza 2 nezavisna ispitivača, u svakom momentu ispitivanja bila je veća od DAS28 i vrednosti ICC bile su sasvim blizu 1,00. Pouzdanost UZDAS, kao i pouzdanost sličnih kompozitnih pokazatelja koji su se zasnivali na UZ i koristili laboratorijske analize, VAS procene aktivnosti i druge pokazatelje aktivnosti RA, nije do sada bila predmet razmatranja u biomedicinskoj literaturi.

Procena validnosti UZ za određivanje aktivnosti RA zahteva potvrdu da UZ zapravo meri intenzitet zapaljenja perifernih zglobova. Nekoliko ranijih istraživanja potvrdilo je da PD određuje

perfuziju u malim krvnim sudovima sinovijskog tkiva, koja raste u slučajevima hroničnog zapaljenskog procesa. Navedene studije pokazale su pozitivnu povezanost gustine krvnih sudova na histološkim preparatima, koji su smatrani za „zlatni standard“ prokrvljenosti tkiva, sa nalazima intenziteta PD signala merenih semikvantitativnim ili kvantitativnim metodama. Pored tih „direktnih“ dokaza, u ranijim istraživanjima postoje navodi o značajnoj međusobnoj povezanosti procene perfuzije sinovijskog tkiva PD metodom i pomoću MRI uz primenu odgovarajućeg kontrasta. Većina istraživanja konstruktivne validnosti ultrazvučnih pokazatelja aktivnosti RA u B i PD modu pokazala je njihovu umerenu ili ređe snažnu pozitivnu korelaciju sa priznatim pokazateljima aktivnosti RA, kao što su DAS28, SDAI (Simplified Disease Activity Index), CDAI (Clinical Disease Activity Index), kao i sa laboratorijskim pokazateljima inflamacije: SE i CRP.

Osetljivost na promene DAS28 i UZDAS u doktorskoj disertaciji obavljena je na osnovu proračuna standardizovanih razlika srednjih vrednosti (SRM). SRM za DAS28 i UZDAS bile su veoma slične i iznosile približno 1,8 – 2,1 za oba pokazatelja nakon 3 i 6 meseci lečenja, kada se izdvoje bolesnici sa pozitivnim ACR20 terapijskim odgovorom. Prikazani nalazi za DAS28 su veoma slični rezultatima drugih istraživača. Verhoeven A i saradnici su još 2000. godine procenili osetljivost na promene originalnog DAS u COBRA studiji, koja je obuhvatila 155 bolesnika sa RA. Kod bolesnika lečenih kombinovanom terapijom (prednizolon, metotreksat i sulfasalazin) SRM je iznosila 1,8; dok je u grupi lečenih sulfasalazinom bila svega 1,0. Drugi autori su ispitivali osetljivost na promene DAS28 kod bolesnika sa aktuelnim pogoršanjem RA. Tako je ispitivanje Fransena J i saradnika pokazalo da SRM za DAS28 u slučaju pogoršanja bolesti iznosi 1,56.

U ovoj disertaciji je potvrđena je visoka konstruktivna i prediktivna validnost, visoka pouzdanost i dobra osetljivost na promene novog kompozitnog ultrazvučnog pokazatelja aktivnosti bolesti, koja, na osnovu podataka iz literature, prevazilazi validnost i pouzdanost DAS28, ali i drugih zbirnih ultrazvučnih indeksa aktivnosti.

D. Objavljeni i saopšteni rezultati koji čine deo teze

1) Damjanov N, Radunović G, Prodanović S, Vuković V, Milić V, Simić Pašalić K, Jablanović D, Šerić S, Milutinović S, and Gavrilov N. Construct validity and reliability of ultrasound disease activity score in assessing joint inflammation in RA: comparison with DAS-28. Rheumatology, published online November 8, 2011. doi:10.1093/rheumatology/ker255. (IF = 4,171)

E. ZAKLJUČAK (Obrazloženje naučnog doprinosa disertacije):

Rezultati ovog istraživanja predstavljaju značajan naučni doprinos naporima istraživača koji se bave problematikom rane dijagnoze i lečenja RA da se muskuloskeletni UZ uvrsti kao jedna od najpreciznijih i najdostupnijih metoda za procenu aktivnosti bolesti i samim tim omogućiti najbolji izbor u lečenju bolesnika. Velika validnost, pouzdanost i osetljivost na promene predloženog ultrazvučnog pokazatelja aktivnosti bolesti (UZDAS) prevazišla je dosadašnje kliničke pokazatelje, zbog čega se novi ultrazvučni pokazatelj može posebno preporučiti za buduća klinička istraživanja kod bolesnika sa RA.

F. PREDLOG KOMISIJE ZA OCENU ZAVRŠENE DOKTORSKE DISERTACIJE

Doktorska disertacija pod nazivom „Ultrazvučni pregled perifernih sinovijskih zglobova u proceni aktivnosti reumatoidnog artritisa“ kandidata mr. sci. med. dr Gorana Radunovića po svom sadržaju i formi, dobro napisanom uvodnom delu, jasno postavljenim ciljevima ispitivanja, dobro osmišljenoj metodologiji, precizno iznetim rezultatima rada, razložnoj diskusiji i dobro formulisanim zaključcima ispunjava sve kriterijume dobro napisanog naučno-stručnog rada, pa ova komisija predlaže Naučnom veću da prihvati doktorsku disertaciju mr. sci. med. dr Gorana Radunovića i da odobri njenu javnu odbranu.

Mentor:

Članovi komisije:

Prof. dr Nemanja Damjanov

Prof. dr Radmila Petrović

Prof. dr Roksanda Stojanović

05.12.2011. u Beogradu

Prof. dr Aleksandra Stanković