

NAU NOM VE U MEDICINSKOG FAKULTETA
UNIVERZITETA U BEOGRADU

Na sednici Nau nog ve a Medicinskog fakulteta u Beogradu, održanoj dana 19.03.2015. godine, broj 4600/13, imenovana je komisija za ocenu završene doktorske disertacije pod naslovom:

**„Procena indikacija za primenu protektivnog intraluminalnog šanta u karotidnoj
hirurgiji“**

kandidata Mr sci. dr Marka Dragaša, zaposlenog na Medicinskom fakultetu u Beogradu kao aistenta na katedri hirurgije sa anesteziologijom i u Klini kom Centru Srbije u Beogradu na Klinici za vaskularnu i endovaskularnu hirurgiju. Mentor je Prof. dr Lazar Davidovi , a komentor je Doc. dr Marija Plješa-Ercegovac.

Komisija za ocenu završene doktorske disertacije imenovana je u sastavu:

1. Prof. dr Živan Maksimovi , profesor Medicinskog fakulteta u Beogradu
2. Akademik Prof. dr or e Radak, profesor Medicinskog fakulteta u Beogradu
3. Prof. dr Tatjana Simi , profesor Medicinskog fakulteta u Beogradu
4. Prof. dr Nadežda ovi kovi -Šterni , profesor Medicinskog fakulteta u Beogradu
5. Doc. dr Vladan Popovi , docent Medicinskog fakulteta u Novom Sadu

Na osnovu analize priložene doktorske disertacije, komisija za ocenu završene doktorske disertacije jednoglasno podnosi Nau nom ve u Medicnskog fakulteta slede i

IZVEŠTAJ

A) Prikaz sadržaja doktorske disertacije

Doktorska disertacija mr sci. dr Marka Dragaša napisana je na 174 kucane strane i podeljena je na slede a poglavlja: uvod, hipoteza i ciljevi istraživanja, metodologija istraživanja, rezultati, diskusija, zaključci i literatura. Rad sadrži ukupno 96 priloga i to: 15 tabela, 48 grafikona i 33 slike. Na kraju disertacije dat je pregled citirane literature u vidu 294 literaturna podatka.

Uvod je kroz jedanaest segmenata podeljen na nekoliko logičkih celina. U prvom segmentu autor daje istorijski osvrt na razvoj hirurgije karotidnih arterija. U drugom delu obrađeni su cerebrovaskularna anatomija sa posebnim osvrtom na kolateralnu moždanu cirkulaciju i fiziološke aspekte regulacije cerebralnog protoka. Treći i segment uvoda detaljno obrađuje etiopatogenezu, kliničku sliku i prirodni tok karotidne bolesti, dijagnostičke procedure, kao i principe lečenja karotidne aterosklerotske bolesti zasnovane na postojećim dokazima. U četvrtom delu uvoda detaljno su obrađene aktuelne kontroverze vezane za pristupe cerebralnoj protekciji i neuromonitoringu u karotidnoj hirurgiji, kao i različite strategije primene protektivnog intraluminalnog šanta u savremenoj kliničkoj praksi. U ovom segmentu posebna pažnja je posvećena problemu subkliničkog moždanog oštećenja tokom hirurgije karotidnih arterija. U poslednjem delu uvoda, analizom publikovanih eksperimentalnih i kliničkih studija, detaljno je obrađen problem ishemijsko-reperfuzionog cerebralnog oštećenja, kao i njegova potencijalna uloga u patogenezi ishemijskog moždanog udara i subkliničkog cerebralnog oštećenja tokom hirurgije karotidnih arterija.

Da bi se, makar delimično rasvetlila uloga protektivnog intraluminalnog šanta u sprečavanju nastanka ishemijsko-reperfuzionog subkliničkog cerebralnog oštećenja i otkrivanju oksidativne ravnoteže mozga tokom karotidne endarterektomije, dr Marko Dragaš je postavio sledeće **ciljeve rada**:

- utvrditi ishod i neposredne rezultate lečenja pacijenata podvrgnutih karotidnoj endarterektomiji sa i bez rutinske primene protektivnog šanta

- utvrditi promene koncentracija biohemijskih pokazatelja moždanog oštećenja (neuron specifični enolaza, protein S-100B) u perifernoj krvi pacijenata podvrgnutih karotidnoj endarterektomiji sa i bez rutinske primene šanta
- utvrditi promene koncentracije laktata u jugularnoj krvi pacijenata podvrgnutih karotidnoj endarterektomiji sa i bez rutinske primene šanta
- utvrditi stepen oksidativnog oštećenja lipida odredivanjem promena biohemijskih pokazatelja lipidne peroksidacije (malondialdehid) u krvi ipsilateralne jugularne vene tokom karotidne endarterektomije sa i bez rutinske primene šanta
- utvrditi stepen oksidativnog oštećenja proteina odredivanjem promena biohemijskih pokazatelja aktivnosti slobodnih radikala (koli i na karbonilnih grupa proteina, proteinskih tiol grupa i koncentracija nitrotirozina) u krvi ipsilateralne jugularne vene tokom karotidne endarterektomije sa i bez rutinske primene šanta
- utvrditi promene u aktivnosti ključnih antioksidantnih enzima u perifernoj krvi pacijenata podvrgnutih karotidnoj endarterektomiji sa i bez rutinske primene šanta

U poglavlju **Metodologija** detaljno je opisano istraživanje, odobreno od strane Etičkog komiteta Medicinskog fakulteta u Beogradu, sprovedeno na 89 bolesnika operisanih zbog hemodinamski značajne karotidne stenozе od strane dr Marka Dragaša tokom 2012. godine u Klinici za vaskularnu i endovaskularnu hirurgiju KCS. Jasno su definisani kriterijumi uključivanja i isključivanja pacijenata u studiju. Od svih operisanih bolesnika u periodu istraživanja 60 je uključeno u analizu i na osnovu intraoperativne primene protektivnog šanta randomizovano u dve grupe od po 30 bolesnika: grupa bolesnika operisanih konvencionalnom tehnikom endarterektomije sa primenom šanta (sCEA) i grupa bolesnika operisanih everzionom tehnikom bez upotrebe šanta (eCEA). Svi pacijenti ispitani su klinički, laboratorijski, ultrasonografski, neurološki, neuroradiološki (MDCT endokranijuma). Detaljno su opisane korišćene hirurške i anesteziološke tehnike, metode monitoringa cerebralne perfuzije, kao i metodologija uzorkovanja krvi za određivanje posmatranih pokazatelja subkliničkog i oksidativnog oštećenja mozga i aktivnosti antioksidantnih enzimskih sistema plazme. Neuron specifični enolaza (NSE) i protein S-100B

određivani su automatizovanom elektrohemiluminiscentnom imunometodom (*electrochemiluminescence immunoassay, ECLIA*). Karbonilne, protein tiolske grupe i malondialdehid određivani su spektrofotometrijski, prema protokolima odgovarajućih metoda. Određivanje koncentracije nitrotirozina izvedeno je primenom odgovarajuće kompetitivne ELISA metode (*enzyme-linked immunoabsorbent assay*). Pokazatelji antioksidantnog kapaciteta u plazmi (aktivnost superoksid dismutaze i glutation peroksidaze) određivani su spektrofotometrijski, primenom odgovarajućih metoda. Sve navedene metode su detaljno i jasno opisane. Takođe su detaljno opisane sve korišćene metode deskriptivne i analitičke statistike, a kao granica statističke značajnosti, uzeto je $p < 0.05$.

U poglavlju **Rezultati** detaljno su izneti i veoma jasno, tabelarno i grafički, predstavljeni svi dobijeni rezultati.

Diskusija je napisana jasno i pregledno. Dobijeni rezultati su detaljno analizirani i upoređeni sa relevantnim podacima iz literature. Svi rezultati su veoma pažljivo interpretirani, uz prepoznavanje ograničenja studije.

Zaključci sažeto prikazuju najvažnije nalaze koji su proistekli iz rezultata rada i diskusije.

Korišćena **literatura** sadrži spisak od 294 primerene i aktuelne reference.

B) Kratak opis postignutih rezultata

Ovo istraživanje je potvrdilo da procena neurološkog statusa pacijenta u regionalnoj anesteziji, u poređenju sa drugim modalitetima, predstavlja najpouzdaniju metodu neuromonitoringa u proceni potrebe za primenom intraluminalnog šanta tokom izvođenja karotidne endarterektomije. Međutim, svojim istraživanjem, dr Marko Dragaš je pokazao da i kod pacijenata bez neuroloških promena koje bi ukazale na neadekvatnost cerebralne kolateralne cirkulacije tokom klemovanja karotidnih arterija, postoje značajne razlike u

serumskim koncentracijama biohemijskih pokazatelja cerebralnog oštećenja i oksidativnog stresa u zavisnosti od primene protektivnog intraluminalnog šanta.

Rezultati ove studije pokazali su da promene vrednosti neuron specifične enolaze (NSE), biohemijskog markera moždane lezije, zavise od intraoperativne primene šanta i od simptomatologije karotidne bolesti. Primena šanta tokom karotidne endarterektomije dovodi do značajnog pada inicijalno visokih vrednosti NSE prvog postoperativnog dana, kod asimptomatskih i simptomatskih pacijenata. Kod pacijenata operisanih bez primene šanta dolazi do porasta serumskih vrednosti NSE, koji je posebno značajan kod simptomatskih pacijenata, ukazujući i da veće postojeće oštećenje mozga verovatno povećava njegovu osetljivost na alteracije cerebralne perfuzije i pored odsustva neuroloških promena tokom karotidnog klemovanja u regionalnoj anesteziji.

Ova studija je takođe pokazala da su promene nivoa pokazatelja oksidativnog oštećenja makromolekula i antioksidantnog kapaciteta tokom karotidne endarterektomije znatno izraženije kod bolesnika operisanih bez primene protektivnog šanta. U poređenju sa pacijentima podvrgnutim karotidnoj endarterektomiji sa primenom šanta, kod pacijenata operisanih bez šanta postoji značajno veći i porast koncentracija MDA u jugularnoj krvi po deklemovanju, što ukazuje na veći i stepen lipidne peroksidacije tokom relativne ishemije i reperfuzije uzrokovane klemovanjem karotidne arterije, čak i kod pacijenata bez klinički evidentnih znakova kritične cerebralne hipoperfuzije. Kod pacijenata operisanih bez primene šanta, takođe postoji značajan porast aktivnosti ključnih antioksidantnih enzima plazme (SOD i GPX) prvog postoperativnog dana, koji indirektno ukazuje na povećano stvaranje KSR i značajno viši intenzitet cerebralnog oksidativnog stresa tokom ove metode karotidne revaskularizacije.

Navedeni podaci od velikog su značaja za dalja istraživanja, jer ukazuju na to da diskretno, subkliničko ishemijsko i reperfuziono oštećenje mozga može nastati tokom karotidne endarterektomije izvedene bez cerebralne protekcije primenom intraluminalnog šanta, uprkos odsustvu neuroloških znakova kritične hipoperfuzije mozga.

C) Uporedna analiza doktorske disertacije sa rezultatima iz literature

Više studija ispitivalo je ulogu neuron specifi ne enolaze (NSE) i proteina S-100B kao pokazatelja subkliničke moždane lezije tokom karotidne revaskularizacije, sa kontroverznim rezultatima. Nekoliko autora (*Rasmussen i saradnici, 2000; Brightwell i saradnici, 2007*) pokazalo je inicijalno visoke serumske vrednosti NSE kod pacijenata sa karotidnom stenozom, kao i njihov pad nakon uspešne karotidne revaskularizacije, što je u skladu sa rezultatima ove studije. Slično nalazima ovog istraživanja, *Brightwell i saradnici (2007)* su konstatovali da su promene koncentracija NSE prvenstveno uzrokovane promenama cerebralne perfuzije tokom karotidnog klemovanja.

Upotreba protektivnog šanta tokom karotidne endarterektomije u ovoj studiji nije uticala na promene serumskih koncentracija proteina S-100B, sugerišu i različite mehanizme otpuštanja dva biološka markera moždane lezije. *Godet i saradnici (2001)* su takođe pronašli umereno postoperativno povećanje serumskih koncentracija ovog proteina, koje se održavalo do prvog postoperativnog dana i konstatovali da promene nisu bile zavisne od dužine klemovanja karotidne arterije, kao ni upotrebe protektivnog šanta tokom operacije.

Palombo i saradnici (2007) nisu pronašli razlike u serumskim koncentracijama ovih biomarkera pre klemovanja i nakon karotidnog deklemovanja. Međutim, uzorkovanje krvi neposredno po karotidnom deklemovanju, moglo je u ovoj studiji da propusti i potceni promene serumskih koncentracija posmatranih parametara.

Relativno mali broj kliničkih studija ispitivao je oksidativni stres i antioksidantni kapacitet tokom karotidne endarterektomije, a samo nekoliko studija se odnosilo na intraoperativnu primenu šanta. Rezultati ove studije demonstrirali su značajno veće koncentracije MDA nakon deklemovanja karotidne arterije u serumu bolesnika operisanih bez primene šanta. *Saito i saradnici (2007)* su pokazali snažnu korelaciju između razvoja postoperativne kognitivne disfunkcije i povišenih jugularnih koncentracija MDA-LDL nakon deklemovanja karotidne arterije. *Soong i saradnici (1996)*, su tokom karotidnih endarterektomija sa rutinskom primenom šanta pokazali pozitivnu korelaciju između trajanja relativno kratkih perioda karotidnog klemovanja i porasta jugularnih koncentracija MDA,

hipotetišu i da do oksidativnog oštećenja cerebralnih lipida može doći i tokom vrlo diskretnih epizoda cerebralne ishemije i reperfuzije, što govori u prilog rezultatima ove studije.

D) Objavljeni radovi koji čine deo doktorske disertacije

1. Dragas M, Koncar I, Opacic D, Ilic N, Maksimovic Z, Markovic M, Ercegovac M, Simic T, Pljesa-Ercegovac M, Davidovic L. Fluctuations of Serum Neuron Specific Enolase and Protein S-100B Concentrations in Relation to the Use of Shunt during Carotid Endarterectomy. PLoS One 2015;10:e0124067. doi:10.1371/journal.pone.0124067

E) Zaključak (obrazloženje naučnog doprinosa)

Doktorska disertacija „**Procena indikacija za primenu protektivnog intraluminalnog šanta u karotidnoj hirurgiji**“ dr Marka Dragaša predstavlja originalni naučni doprinos u razumevanju protektivnog efekta kontinuirane perfuzije mozga tokom karotidne endarterektomije primenom intraluminalnog šanta, kao i patofizioloških procesa koji učestvuju u patogenezi ishemijsko/reperfuzionog oštećenja tokom klemovanja karotidnih arterija. Ovim istraživanjem ukazano je na mogućnost postojanja ishemijskog i reperfuzionog oštećenja mozga tokom karotidne revaskularizacije uprkos odsustvu kliničkih i neuroloških promena i pružene su smernice za dalje istraživanje. Rezultati ove doktorske disertacije bi mogli da pomognu u reevaluaciji rutinski primenjivanih metoda neuromonitoringa i indikacija za primenu protektivnog šanta u hirurgiji karotidnih arterija.

Ova doktorska disertacija je urađena prema svim principima naučnog istraživanja. Ciljevi su bili precizno definisani, naučni pristup je bio originalan i pažljivo izabran, a metodologija rada je bila savremena. Rezultati su pregledno i sistematično prikazani i diskutovani, a iz njih su izvedeni odgovarajući i zaključci.

Na osnovu svega navedenog, i imaju i u vidu dosadašnji nau ni rad kandidata, komisija predlaže Nau nom ve u Medicinskog fakulteta Univerziteta u Beogradu da prihvati doktorsku disertaciju dr Marka Dragaša i odobri njenu javnu odbranu radi sticanja akademske titule doktora medicinskih nauka.

lanovi Komisije:

Prof. dr Živan Maksimovi

Mentor:

Prof. dr Lazar Davidovi

Prof. dr or e Radak

Komentor:

Doc. dr Marija Plješa-Ercegovac

Prof. dr Tatjana Simi

Prof. dr Nadežda ovi kovi -Šterni

Doc. dr Vladan Popovi