

NAUČNOM VEĆU MEDICINSKOG FAKULTETA
UNIVERZITETA U BEOGRADU

Na sednici Naučnog veća Medicinskog fakulteta u Beogradu, održanoj dana 28.02.2019. godine, broj 9700/02-MM, imenovana je komisija za ocenu završene doktorske disertacije pod naslovom:

„Kardioprotektivni efekat udaljenog ishemijskog prekondicioniranja tokom hirurške revaskularizacije miokarda u akutnom koronarnom sindromu bez ST elevacije“

kandidata Dr Miroslava Miličića, zaposlenog u Institutu za Kardiovaskularne Bolesti „Dedinje“ u Beogradu.

Mentor je Prof.dr Predrag Milojević a komentor Doc. dr Ivan Soldatović.

Komisija za ocenu završene doktorske disertacije imenovana je u sastavu:

1. Prof. dr Miodrag Perić, profesor Medicinskog fakulteta u Beogradu
2. Prof. dr Miomir Jović, profesor Medicinskog fakulteta u Beogradu
3. Doc. dr Radoslav Romanović, docent Medicinskog fakulteta VMA u Beogradu

Na osnovu analize priložene doktorske disertacije, komisija za ocenu završene doktorske disertacije jednoglasno podnosi Naučnom veću Medicinskog fakulteta sledeći

IZVEŠTAJ

A) Prikaz sadržaja doktorke disertacije

Doktorska disertacija dr Miroslava Miličića napisana je na ukupno 91 strani i podeljena je na sledeća poglavlja: uvod, cilj i hipoteze istraživanja, metodologija, rezultati, diskusija, zaključak i literatura. U disertaciji se nalazi ukupno 32 tabele, 30 grafikona, 7 slika i 1 dijagram. Doktorska disertacija sadrži sažetak na srpskom i engleskom jeziku, biografiju kandidata i podatke o komisiji.

U **uvodu** je definisano šta je to akutni koronarni sindrom, koji su njegovi klinički podtipovi, njihove definicije i načini kako se tretiraju. Detaljno je navedeno koje su specifičnosti

hirurškog lečenja akutnog koronarnog sindroma bez ST segment elevacije u smislu izbora optimalnog vremena za operaciju, komplikacija vezanih za postoperativno krvarenje, odabira graftova za revaskularizaciju kao i postoperativnog monitoringa bolesnika. Na adekvatan način su u potpunosti opisane sve kardioplegijske i nekardioplegijske tehnike miokardne protekcije koje se koriste tokom kardiohirurških operacija sa detaljnim osvrtom na udaljeno ishemijsko prekondicioniranje od njegovog uvođenja u kliničku praksu do najnovijih saznanja vezanih za kardioprotektivno dejstvo ovog biološkog fenomena.

Ciljevi rada su precizno definisani. Sastoje se od ispitivanja uticaja udaljenog ishemijskog prekondicioniranja tokom hirurške revaskularizacije miokarda u akutnom koronarnom sindromu bez ST elevacije na značajnije smanjenje vrednosti biohemijskih markera ishemije miokarda (troponina u serumu) nakon operacije u odnosu na standardnu proceduru. Takođe kao ciljevi rada navedena su i ispitivanja uticaja udaljenog ishemijskog prekondicioniranja na poboljšanje postoperativnih hemodinamskih parametara, dužinu trajanja mehaničke ventilacije i dužinu boravka bolesnika u jedinici intenzivnog lečenja kao i uticaja na smanjenje učestalosti postoperativnih komplikacija.

U poglavlju **metodologija** je navedeno da se radi o prospektivnoj, randomizovanoj studiji koja je sprovedena u Institutu za Kardiovaskularne Bolesti „Dedinje“ u Beogradu. Ova studija je odobrena od strane Etičkog komiteta Medicinskog fakulteta Univerziteta u Beogradu i Etičkog komiteta IKVB „Dedinje“. Svi pacijenti su dali pisani pristanak pre uključenja u studiju. Detaljno je opisan način odabira i randomizacije pacijenata, kao i kriterijumi za uključenje u studiju i isključenje iz studije. Jasno je objašnjen protokol primene udaljenog ishemijskog prekondicioniranja kao i klinička metodologija u smislu protokola operativnog i postoperativnog postupka. Na kraju je detaljno prikazan način prikupljanja podataka i analize hemodinamskih merenja i biohemijskih parametara uz nabranje metoda deskriptivne i analitičke statistike koje su korišćene pri analizi rezultata.

U poglavlju **rezultati** detaljno su opisani i jasno predstavljeni svi dobijeni rezultati.

Diskusija je napisana jasno i pregledno, uz prikaz podataka drugih istraživanja sa uporednim pregledom dobijenih rezultata doktorske disertacije.

Zaključak sažeto prikazuje najvažnije nalaze koji su proistekli iz rezultata rada.

Korišćena **literatura** sadrži spisak od 123 reference.

B) Kratak opis postignutih rezultata

Prosečna starost ispitanika u RICP grupi iznosi 65.60 ± 10.95 a u kontrolnoj 65.90 ± 7.51 godina starosti tako da su one skoro identične ($t = -0,124$; $p = 0,902$). Uzorke predominantno čine muškarci, ali je distribucija polova u ispitivanim grupama vrlo slična tako da je Fišerovim testom tačne verovatnoće, utvrđeno da nema značajne razlike između grupa po polu ($p = 0,706$). Prosečna vrednost indeksa telesne mase je gotovo identična u ispitivanim grupama, tako da nema ni statistički značajne razlike između njima ($t = -0,622$; $p = 0,536$). Procenat pacijenata sa NYHA klasom III-IV je gotovo identičan u obe ispitivane grupe i nema statistički značajne razlike ($X^2 = 0,067$; $p = 0,796$). Distribucija pacijenata ukazuje da su grupe vrlo homogene po pitanju faktora rizika (hipertenzija, hiperlipoproteinemija, diabetes mellitus, periferna arterijska okluzivna bolest, prethodni infarkt miokarda) i da među njima nema značajne razlike. Fišerovim testom tačne verovatnoće, utvrđeno je da je trosudovna koronarna bolest podjednako zastupljena u obe grupe ($p = 0,424$). Distribucija pacijenata sa stenozom glavnog stabla leve koronarne arterije većom od 50% je gotovo identična u ispitivanim grupama ($X^2 = 0,067$; $p = 0,796$). Prosečna vrednost ejekcione frakcije leve komore se ne razlikuje značajno među grupama ($t = 0,622$; $p = 0,536$). Na osnovu dobijenih rezultata, utvrđeno je da postoji statistički značajna razlika između grupa po vremenu trajanja kardiopulmonalnog bajpasa koje je značajno duže u RICP grupi ($t = 3,089$; $p = 0,003$). Prosečno vreme trajanja kleme na aorti je za nešto više od 10 minuta duže u grupi RICP i t testom je utvrđeno da postoji značajna razlika ($t = 2,590$; $p = 0,012$). Na osnovu dobijenih rezultata, utvrđeno je da je medijana (kao i aritmetička sredina) broja graftova po pacijentu nešto veća u RICP grupi tako da je razlika statistički značajna ($Z = -3,504$; $p < 0,001$). Procenat pacijenata koji su duže od 12h postoperativno dobijali infuziju inotropnih lekova za 20% je veći u RICP grupi ali statističkom analizom nije dobijena značajna razlika između ispitivanih grupa ($X^2 = 2,500$; $p = 0,114$). Medijane vremena trajanja mehaničke ventilacije (kao i aritmetičke sredine) su gotovo identične u ispitivanim grupama, pa je očekivano da statističkom analizom nije dobijena značajnost razlike ($Z = -0,556$; $p = 0,578$). Procenat pacijenata sa atrijalnom fibrilacijom je veći u grupi RICP za gotovo 17% ali statističkom analizom je utvrđeno da ova razlika nije značajna ($X^2 = 2,052$; $p = 0,152$). Varijabilitet broja dana u jedinici intenzivnog lečenja kao i broja postoperativnih dana je veoma veliki u RICP grupi ali je medijana vrlo slična u obe ispitivane grupe tako da nema značajne razlike ($Z = -0,136$; $p = 0,892$), ($Z = -0,091$; $p = 0,928$). Od ukupnog broja pacijenata, samo su dva imala smrtni ishod i oba su u RICP grupi ali Fišerovim testom tačne verovatnoće, utvrđeno je da nema značajne razlike između

grupa po broju smrtnih ishoda ($p=0,492$). Analizom varijanse ponovljenih merenja je utvrđeno da postoji statistički značajna promena vrednosti cardiac output-a (CO) kod svih pacijenata zajedno ($F=22,736$; $p<0,001$; $Eta2part=0,282$), ali nema značajnog uticaja procedure na ovu promenu ($F=0,430$; $p=0,737$; $Eta2part=0,007$). Analizom varijanse ponovljenih merenja je utvrđeno da postoji statistički značajna promena vrednosti srednjeg arterijskog pritiska kod svih pacijenata zajedno ($F=6,494$; $p<0,001$; $Eta2part=0,101$), ali da nema značajnog uticaja procedure na ovu promenu ($F=0,457$; $p=0,717$; $Eta2part=0,008$). Isto je utvrđeno i da ne postoji statistički značajna promena vrednosti pulmonalnog kapilarnog okluzionog pritiska (PCWP) kod svih pacijenata zajedno ($F=0,365$; $p=0,809$; $Eta2part=0,006$), a nema ni značajnog uticaja procedure na ovu promenu ($F=0,913$; $p=0,448$; $Eta2part=0,015$). Analizom varijanse ponovljenih merenja je utvrđeno da postoji statistički značajna promena vrednosti cardiac index-a (CI) kod svih pacijenata zajedno ($F=22,708$; $p<0,001$; $Eta2part=0,281$) ali nema značajnog uticaja procedure na ovu promenu ($F=0,292$; $p=0,832$; $Eta2part=0,005$). Postoperativno su vrednosti Troponina merene u sedam vremenskih tačaka. Statističkom analizom, Friedman-ovim testom je utvrđeno da postoji značajna razlika između ovih sedam merenja kod svih pacijenata zajedno ($X^2=234,157$; $p<0,001$) a kada se pacijenti podele na grupe, utvrđeno je da postoji značajna razlika vrednosti troponina u grupi RICP ($X^2=124,735$; $p<0,001$), kao i u kontrolnoj grupi ($X^2=111,320$; $p<0,001$). Da bi potvrdili dobijene rezultate, troponin je transformisan logaritmovanjem. Urađen je linearni miks model sa Compound symmetry tipom kovarijanse za ponovljena merenja. Rezultati ovog modela ukazuju da postoji značajna promena vrednosti troponina u vremenu ($F=107,437$; $p<0,001$), ali nema statistički značajnog uticaja procedure, odnosno grupe na promenu vrednosti troponina ($F=0,828$; $p=0,549$). Vrednosti CKMB su merene preoperativno i 24h nakon operacije. Na osnovu dobijenih rezultata je utvrđeno da nema značajnih razlika u vrednosti CKMB između grupa u ispitivanim vremenskim tačkama. Takođe utvrđeno je da postoji značajna razlika u vrednosti CKMB pre i nakon 24h u RICP grupi ($t=-5,350$; $p<0,001$), kao i u kontrolnoj grupi ($t=-5,128$; $p<0,001$). Ipak, analizom je utvrđeno da iako postoji promena vrednosti u vremenu, ne postoji uticaj procedure na samu promenu ($F=0,427$; $p=0,516$). I vrednosti CRP su merene preoperativno i 24h nakon operacije. Utvrđeno je da postoji značajna razlika u promeni vrednosti CRP pre i nakon 24h u RICP grupi ($t=-13,526$; $p<0,001$), kao i u kontrolnoj grupi ($t=-13,280$; $p<0,001$), ali je analizom utvrđeno da iako postoji promena vrednosti u vremenu, ne postoji uticaj procedure na samu promenu ($F=0,254$; $p=0,616$).

C) Usporedna analiza doktorske disertacije sa rezultatima iz literature

Dosadašnja istraživanja u ovoj oblasti su sprovedena na bolesnicima koji su podvrgnuti elektivnoj hirurškoj revaskularizaciji miokarda i kardioprotektivni efekat udaljenog ishemijskog prekondicioniranja (RICP) još nije ispitan tokom hitnih operacija kakve zahteva akutni koronarni sindrom (AKS). Grupe ispitanika (RICP i kontrolna grupa) u ovom istraživanju su bile veoma homogene po distribuciji preoperativnih karakteristika a uključeni su svi konsekutivni bolesnici sa NSTEMI AKS prema navedenim kriterijumima. Pojedine studije (Thielmann i sar. 2013.) su isključivale bolesnike sa diabetes mellitusom zbog moguće nepovoljne interakcije sa kardioprotektivnim dejstvom RICP dok su neke (Jensen i sar. 2012) ispitivale da li je smanjeno protektivno dejstvo RICP u dijabetičara rezultat redukovano oslobađanja biohumoralnih medijatora koji su odgovorni za dejstvo RICP ili je u pitanju neadekvatan odgovor ciljnog tkiva. Ova studija je obuhvatila i bolesnike sa diabetes mellitusom ali su oni podjednako zastupljeni i u kontrolnoj i u ispitivanoj grupi tako da ovaj faktor rizika nije uticao na efekte RICP. Produženo vreme kardiopulmonalnog bajpasa (CPB) i klemne na aorti u RICP grupi nije doprinelo dodatnom kardioprotektivnom efektu jer nije bilo statistički značajne razlike među grupama u pogledu koncentracije kardiospecifičnih enzima koji reflektuju miokardnu ishemiju što se podudara sa istraživanjem Ghosh i sar. 2003. gde je pokazano da RICP ima dodatni kardioprotektivni efekat samo u operacijama bez upotrebe CPB ali da nema uticaja na ishod operacija koje se izvode uz pomoć vantelesnog krvotoka jer po njima CPB indukuje prekondicioniranje sam po sebi. Analizirajući uticaj RICP nakon aortokoronarnog bajpasa na pojavu novonastale postoperativne atrijalne fibrilacije mnogi autori nisu došli do zaključka da je ona redukovana u odnosu na slepo kondicioniranu kontrolnu grupu (Hausenloy i sar. 2012., Hong i sar. 2014., Almassi i sar. 2004.) što je potvrđeno i u ovom istraživanju. Pojedine multicentrične studije utvrdile su niži mortalitet u kontrolnoj nego u RICP grupi (Meybohm i sar. 2015., Hausenloy i sar. 2015) što je bio slučaj i u ovoj populaciji bolesnika. Kako intrahospitalni mortalitet zavisi od mnogo faktora, naročito u visokorizičnih bolesnika koji su uključeni u ovu studiju ispitivana metoda nije kvalifikovana kao njegov prediktor pogotovo zbog manjeg broja uključenih ispitanika. Sve dosadašnje studije koje su se bavile kardioprotektivnim dejstvom RICP analizirale su koncentracije troponina koji je reflektovao postishemijsku leziju miokarda ali je manji broj onih koje su analizirale postoperativne hemodinamske parametre. Lucchinetti i sar. 2012. i Rahman i sar. 2010. su analizirali neke postoperativne hemodinamske parametre i dokazali da nije bilo povoljnog uticaja RICP na njihovo poboljšanje a ova studija je prikazala slične

rezultate. Pojedini autori su se bavili i korelacijom između povećane koncentracije C reaktivnog proteina (CRP) kao markera inflamacije i mortaliteta u AKS (Heeschen i sar. 2000.) i pokazali da RICP čak nepovoljno utiče na inflamaciju odnosno koncentraciju CRP ali samo u subpopulaciji bolesnika koji nisu bili na terapiji statinima (Iliodromitis i sar. 2006.). Ovo istraživanje je takođe pokazalo da RICP nije imao uticaja na promene vrednosti CRP među ispitivanim grupama. Autori koji su ispitivali korelaciju kardioprotektivnog dejstva RICP i povišene koncentracije kardiospecifičnog enzima CKMB kao prediktora postoperativne disfunkcije leve komore i mortaliteta (Karuppasamy i sar. 2011., Walsh i sar. 2016.) nisu dokazali da RICP ima povoljno dejstvo na protekciju miokarda što je u skladu i sa rezultatima dobijenim ovim istraživanjem. Na kraju, veći broj multicentričnih randomizovanih studija kao i meta-analiza nije dokazao da udaljeno ishemijsko prekondicioniranje ima povoljan kardioprotektivni efekat na ishemični miokard tokom kardiohirurških procedura koji se ogledao u smanjenju koncentracije Troponina I kao markera oštećenja miokarda (Meybohm i sar. 2015., Hausenloy i sar. 2015., Rahman i sar. 2010., Walsh i sar. 2016., Hong i sar. 2014). Čak ni velika ERICCA studija 2012. nije pokazala povoljne protektivne efekte RICP na ishod hirurškog lečenja kardiohirurških bolesnika. Rezultati ovog istraživanja su doveli do istog zaključka.

D) Objavljeni radovi koji čine deo doktorske disertacije

Miroslav Miličić, Ivan Soldatović, Duško Nežić, Miomir Jović, Vera Maravić Stojković, Petar Vuković, Predrag Milojević. “Remote ischemic preconditioning in patients undergoing coronary bypass grafting following acute coronary syndrome without ST elevation“ Vojnosanitetski pregled (2018); DOI: <https://doi.org/10.2298/VSP180414179M>.

E) Zaključak (obrazloženje naučnog doprinosa)

Doktorska disertacija „Kardioprotektivni efekat udaljenog ishemijskog prekondicioniranja tokom hirurške revaskularizacije miokarda u akutnom koronarnom sindromu bez ST elevacije“ dr Miroslava Miličića, kao prvi ovakav rad u našoj populaciji predstavlja originalni naučni doprinos u razumevanju uticaja udaljenog ishemijskog prekondicioniranja u navedenoj subpopulaciji kardiohirurških bolesnika. Do sada u domaćoj i stranoj literaturi nisu publikovane studije u kojima je uticaj udaljenog ishemijskog prekondicioniranja proučavan u bolesnika u akutnom koronarnom sindromu bez ST elevacije koji su podvrgnuti hirurškoj revaskularizaciji miokarda.

Detaljnom analizom velikog broja preoperativnih karakteristika bolesnika uključenih u studiju a zatim i postoperativnih parametara u smislu komplikacija, hemodinamskih parametara i biohemijskih rezultata zaključeno je da udaljeno ishemijsko prekondicioniranje nije doprinelo očekivanom dodatnom kardioprotektivnom efektu u ispitivanoj grupi bolesnika. Dosadašnja istraživanja i objavljene meta analize koje su se bavile kardioprotektivnim efektom udaljenog ishemijskog prekondicioniranja su imale kontroverzne rezultate a kao osnovni nedostaci navedene su različite veličine uzorka i preoperativnih karakteristika bolesnika te nestandardizovane vrste kardioplegije, preoperativne medikacije, anesteziološkog protokola i različito vreme primenjenog prekondicioniranja. Ova studija, kao jedina objavljena do sada koja je uključila samo hitno operisane bolesnike, dala je svoj skromni doprinos u traganju za novim dodatnim kardioprotektivnim metodom koji je naročito neophodan u hirurškoj revaskularizaciji ishemičnog miokarda. S obzirom da se rezultati ovog istraživanja podudaraju sa rezultatima mnogih većih studija i meta-analiza koje su se bavile miokardnom protekcijom nameće se zaključak da je neophodno dalje pronalaženje novih kardioprotektivnih metoda ili farmakoloških agenasa u cilju bolje protekcije miokarda tokom kardiohirurških operacija. Iako je prvobitno povoljno kardioprotektivno dejstvo udaljenog ishemijskog prekondicioniranja u mnogim studijama kasnije osporeno kao i u ovom istraživanju, neophodna su dalja ispitivanja ovog fenomena eventualno u pravcu optimalnog vremena njegove primene, dužine trajanja stimulusa i njegove interakcije sa drugim kardioprotektivnim stimulusima kako bi on zaslužio svoje mesto u rutinskoj kliničkoj praksi.

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 zaključci.

Na osnovu svega navedenog, i imajući u vidu dosadašnji naučni rad kandidata, komisija predlaže Naučnom veću Medicinskog fakulteta Univerziteta u Beogradu da prihvati doktorsku disertaciju dr Miroslava Miličića i odobri njenu javnu odbranu radi sticanja akademske titule doktora medicinskih nauka.

U Beogradu, 17.03.2019.

Članovi Komisije:

Prof. dr Miodrag Perić

Prof. dr Miomir Jović

Doc. dr Radoslav Romanović

Mentor:

Prof. dr Predrag Milojević

Komentor:

Doc. dr Ivan Soldatović
