

NAUČNOM VEĆU MEDICINSKOG FAKULTETA
UNIVERZITETA U BEOGRDU

Na sednici Naučnog veća Medicinskog fakulteta u Beogradu, održanoj dana 11.03.2020. godine, broj 9700/07-MP, imenovana je komisija za ocenu završene doktorske disertacije pod naslovom:

„Značaj primene kombinovane terapije heparina i vežbanja kod bolesnika sa refraktornom anginom pektorisa“

kandidata dr Marija Petrović, koja je u periodu izrade teze bila zaposlena na Klinici za Kardiologiju, Kliničkog Centra Srbije. Mentor je Prof. dr Ana Djordjević Dikić.

Komisija za ocenu završene doktorske disertacije imenovana je u sastavu:

1. Prof. dr Branko Beleslin, profesor Medicinskog fakulteta u Beogradu
2. Prof. dr Milica Dekleva Manojlović, profesor Medicinskog fakulteta u Beogradu
3. Prof. dr Miloje Tomašević, profesor Medicinskog fakulteta u Kragujevcu

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 Marije Petrović napisana je na ukupno 58 strana i podeljena je na sledeća poglavlja: uvod, ciljevi rada, materijal i metode, rezultati, diskusija, zaključci i literatura. U disertaciji se nalazi ukupno 6 tabela, i 11 slika. Doktorska disertacija sadrži sažetak na srpskom i engleskom jeziku, biografiju kandidata, podatke o komisiji i spisak skraćenica korišćenih u tekstu.

U **uvodu** je definisano šta je to koronarna arteriogeneza i koronarna angiogeneza, koji mehanizmi i faktori rasta su uključeni u ove procese, kada se ona događa i podstiče i kod kojih bolesnika. Navedena je epidemiologija hroničnog koronarnog sindroma i refraktorne srčane angine. Na adekvatan način je opisana uloga koronarne kolateralne cirkulacije u smanjenju neželjenih kardiovaskularnih događaja, uključujući i mortalitet bolesnika kod osoba sa prisutnom hroničnom totalnom okluzijom bar jednog koronarnog krvnog suda.

Takođe je prikazan detaljan osvrt na dosadašnja saznanja vezana za ulogu heparina u kombinaciji sa vežbanjem u razvoju koronarnih kolateralnih krvnih sudova, odnosno koji je njihov zajednički doprinos u stimulisanju koronarne arteriogenze pre svega, ali i koronarne angiogeneze.

Ciljevi rada su precizno definisani. Sastoje se od procene težine stabilne srčane angine pre i nakon fizičkog treninga u obe grupe ispitanika (podvrgnutih svakodnevnom vežbanju sa i bez premedikacije heparinom); Izračunavanja indeksa pokretljivosti zidova leve komore pri maksimalnom opterećenju tokom stres egokardiografskog testa opterećenjem pre i nakon fizičkog treninga u obe grupe ispitanika; Procene kolateralne cirkulacije na MSCT koronarnoj angiografiji pre i nakon fizičkog treninga u obe grupe ispitanika.

U poglavlju **materijal i metode** je navedeno da se radi o randomizovanoj, prospektivnoj, eksperimentalnoj studiji koja je sprovedena u Klinici za Kardiologiju Kliničkog Centra Srbije. Detaljno su opisani kriterijumi za uključanje u studiju, kao i kriterijumi za isključenje iz studije. Opisana je klasifikacija Kanadskog Udruženja Kardiologa (Canadian Cardiovascular Society, CCS), koju je korišćena za procenu težine srčane angine kao i upitnik o stabilnoj angina (Seattle Angina Questionnaire, SAQ) od 19 pitanja koji meri 5 klinički važnih dimenzija zdravlja kod bolesnika sa koronarnom bolesti

Kod svih bolesnika je rađen transtoraksni ehokardiografski pregled u miru pre početka fizičkog treninga, stresna ehokardiografija sa fizičkim opterećenjem po standardnim kliničkim protokolima pre započinjanja treninga i po zvrešetku 2-nedeljnog treniinga, i MSCT koronarna angiografija. Ehokardiografskim pregledom je procenjivana funkcija leve komore (LK) i segmentna kinetika miokarda. Na MSCT koronarnoj angiografiji procenjivana je kolateralna cirkulacija pre i nakon 2-nedeljnog vežbnja. Kod svih pacijenata, tokom stresne ehokardiografije je mereno i vreme do pojave miokardne ishemije, koja je definisana pojavom ST depresija (najmanje 1mm) na EKG-u u najmanje 2 odvoda.

Bolesnici su randomizovani u 2 grupe (po 16 bolesnika u svakoj grupi): Grupa 1, bolesnici koji su bili podvrgnuti standardnoj fizikalnoj rehabilitaciji (fizički trening), sprovedenoj po modifikovanom Bruce protkolu (sa davanjem iv. placebo 10 minuta pre svake od 2 dnevne sesije fizičkog treninga), koji se održava 5 dana nedeljno, tokom 2 nedelje). Kao placebo injekciju korišćena je iv injekcija od 2 ml fiziološkog rastvora (0,9% NaCl); Grupa 2, bolesnici koji su biti podvrgnuti standardnoj fizikalnoj rehabilitaciji sa prethodnom primenom

leka (isto kao prethodna grupa ali sa heparinom 100 ij/kg do maksimalne doze od 5000 ij iv. 10 minuta pre fizičkog treninga).

Ova studija je sprovedena u skladu sa Helsinškom deklaracijom, a odobrena je i od strane Etičkog komiteta, Medicinskog fakulteta, Univerziteta u Beogradu. Svi pacijenti su dali pisani pristanak pre uključenja u studiju. Svi upitnici koji su korišćeni u studiji su detaljno opisani, a pojašnjen je i način skorovanja.

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.

Zaključci sažeto prikazuju najvažnije nalaze koji su proistekli iz rezultata rada. Korišćena **literatura** sadrži spisak od 143 reference.

B) Kratak opis postignutih rezultata

Dvonedeljno vežbanje kod bolesnika, koji su dobijali intravenski heparin kao premedikaciju statistički značajno je produžilo vreme do nastupanja ishemije miokarda (mereno vremenom do pojave depresije ST segmenta u EKG od minimum 1 mm tokom testa fizičkim opterećenjem). Vežbanje je statistički značajno popravilo simptome stabilne srčane angine, merene promenom CCS klase, kod svih bolesnika bez obzira na primenu heparina. U grupi bolesnika, koji su dobijali heparin ova promena je bila uočljivija i značajnija.

Takodje, vežbanje sa heparinom je poravilo kvalitet života i stabilnost srčane angine mereno Sietel upitnikom o stabilnoj srčanoj angini, dok je samo vežbanje (bez heparina) popravilo učestalost anginoznih tegoba.

Dvonedeljno vežbanje sa heparinom je statistički značajno popravilo regionalnu i globalnu funkciju LK pri fizičkom opterećenju merenu ejectionom frakcijom (EF), indeksom skora pokretljivosti zidova miokarda (WMSI) i globalnim i regionalnim longitudinalnim strejnom (deformacijom miokarda). Ovim istraživanjem integrisani su klasični ciljevi za procenu funkcije LK sa različitim parametarima, koji imaju komplementarnu jačinu i ograničenja (140). WMSI je semikvantitativan i zasnovan je na vizuelnoj proceni kretanja regionalnog zida. EF je indeks globalne funkcije LK u vremenu, ali zavisian od stepena opterećenja i zahteva kvantitativno volumetrijsko merenje LK što nije izvodljivo kod svih pacijenata (3% u ispitivanoj populaciji u ovoj studiji). Globalni longitudinalni strej (GLS) je napredna metoda u

kvantitativnoj proceni longitudinalne (subendokardijalne) funkcije srca, ali odnos signala i šuma degradira u stanjima velikog broja otkucaja srca (141), i tehnički neadekvatna procena je bila prisutna kod 5% bolesnika ove studije. Ova tri indeksa (WMSI, EF i GLS) kod svih bolesnika menjala su se usaglašeno i koherentno, pokazujući veće funkcionalno poboljšanje u grupi bolesnika sa heparinom u poređenju sa bolesnicima koji su dobijali placebo pre vežbanja.

Dvonedeljno vežbanje sa heparinom je statistički značajno popravilo anatomske skor/klasu razvijenosti kolaterala na MSCT-u (Rentrop klasu). MSCT je korišćena za procenu koronarne kolateralne cirkulacije (CCC). Prednost ove metode je što pruža razumnu neinvazivnu alternativu, posebno pogodnu kada se svaki pacijent koristi kao sopstvena kontrola.

Između bolesnika koji su dobijali heparin i koji su vežbali bez heparina nije bilo statistički značajne razlike u broju leukocita, neutrofila, limfocita, odnosu neutrofila i limfocita kao i u vrednosti CRP, na početku istraživanja i nakon 2 –nedelje treninga.

C) Uporedna analiza doktorske disertacije sa rezultatima iz literature

Scalone sa saradnicima je pokazao da je kratka epizoda ishemije miokarda kod simptomatskih bolesnika sa koronarnom bolešću (indukovana vežbanjem pri malom opterećenju i zaustavljena na depresiji ST-segmenta od 1 mm) štitila ove pacijente od povećane reaktivnosti trombocita pri maksimalno stres testu vežbanjem. Za razliku od kratkotrajnog vežbanja, redovna fizička aktivnost smanjuje reaktivnost trombocita i broj konjugata trombocita sa leukocitima kod zdravih ispitanika i kod osoba sa koronarnom bolešću, što je u skladu sa vazoprotektivnim i antiaterosklerotičkim efektom vežbanja. (14, 123-127)

Mobius-Vinkler i sar. pokazali su da je 4-nedeljno vežbanje umerenog do visokog intenziteta dovelo do porasta kapaciteta za vežbanje i indeksa koronarnog protoka(CFI) kod pacijenata sa no-option koronarnom bolešću, što je u skladu sa smanjenjem klase srčane angine primećenim kod svih bolesnika ove studije sa vežbanjem (56). Takođe, uočeno je povećanje CCC u grupi bolesnika sa premedikacijom sa heparinom, ali anatomske indeks koji je korišćen je nešto manje fiziološki značajan od CFI.

Prethodne eksperimentalne (19) i kliničke studije (79, 84) pokazale su efikasnost vežbanja u kombinaciji sa nefrakcionisanim heparinom u stimulaciji angiogeneze u perifernim arterijama

(92) i u koronarnim arterijama (19). U svom fundamentalnom radu, Fujita i sar. 1988. godine proučavali su 10 pacijenata koji su vežbali dva puta dnevno tokom 10 dana lečenih i pri čemu su dobijali intravenski heparin 5000 IU, 10 do 20 minuta pre sesije vežbanja. U poređenju sa 6 pacijenata koji je samo vežbalo, pacijenti lečeni sa vežbanjem uz heparin pokazali su porast ukupnog trajanja vežbanja za 35% (180 sec), a poboljšanje indeksa koronarnog kolaterala procenjeno je invazivnom koronarnom angiografijom (84).

Slični podaci dobili su i drugi autori koji su koristili subkutani (20, 134) ili intravenski (135) nisko-molekularni heparin i imali samo vežbanje ili samo heparin u kontrolnoj grupi; iako je ukupan broj lečenih pacijenata koji su učestvovali u ovim studijama, bilo sa intravenskim ili potkožnim heparinom, bio ukupno 93 pacijenta (86). Sličan pristup gde je pokazana korist pre-medikacijom heparinom primećen je kod pacijenata sa Kavasakijevom bolešću (79) i kod bolesnika sa koronarnom bolesti koji nisu u mogućnosti da vežbaju i koji su bili podvrgnuti terapiji ekstrakorporalnim šok talasima (136) ili infuzijom adenozinom (87). U svim slučajevima, anti-ishemijski efekat izolovanog lečenja (sa vežbanjem ili ekstrakorporalnom terapijom šok talasa ili adenozinom) jasno je pojačan pre tretmanom sa heparinom.

U kliničkim smernicama, svi lekovi koji se koriste za lečenje simptomatske hronične angine pektoris imaju sličnu efikasnost u smanjenju simptoma, ali ne pružaju dovoljno dokaza za poboljšanje preživljavanja (2). Poboljšanje CCC podrazumeva konceptualno drugačiji mehanizam, različit, a istovremeno sinergičan sa preporučenim lečenjem, uz potencijal za smanjenje smrtnosti (46).

U stvari, korišćene su niske doze starog leka, kao što je heparin, sa utvrđenim dosijeima o bezbednosti. Smatra se da je proces pokrenute koronarne arteriogeneze specifičan za lokaciju i specifičan za događaj, lokalizovan u vremenu i prostoru u miokardnom regionu koji zavisi od okludiranog koronarnog suda gde se razvija ishemija tokom stresa. Pored toga, postoji veliki broj pretkliničkih dokaza da heparin blokira, ne promovise, angiogenezu tumora, koja se delimično razlikuje u ćelijskim i molekularnim mehanizmima od benigne koronarne arteriogeneze (137, 138).

Ciklus vežbanja je trajao 2 nedelje (10 sesija, dva puta dnevno) zbog logističkih ograničenja. Duže vreme bi moglo biti još efikasnije u indukovanju strukturne promena CCC-a, bar kod onih pacijenata koji i dalje imaju inducibilnu ishemiju nakon lečenja.

D) Objavljeni radovi koji čine deo doktorske disertacije

*Petrovic Marija, Djordjević Dikić Ana, Giga Vojislav, Bošković Nikola, Vukčević Vladan, Cvetić Vladimir, Mladenović Ana, Radmilo Oliver, Marković Željko, Dobrić Milan, Aleksandrić Srdjan, Tešić Milorad, Juričić Stefan, Nedeljković Beleslin Biljana, Stojković Siniša, Ostojić C. Miodrag, Beleslin Branko, Picano Eugenio. **The Coronary Arteriogenesis with combined Heparin and Exercise therapy in chronic refractory Angina (CARHEXA) trial: a double-blind, randomized, placebo-controlled stress echocardiographic study.** EJPC(2019). In press.*

E) Zaključak (obrazloženje naučnog doprinosa)

Doktorska disertacija „Značaj primene kombinovane terapije heparina i vežbanja kod bolesnika sa refraktornom anginom pektoris“ dr Marije Petrović, kao prvi ovakav rad u našoj populaciji predstavlja originalni naučni doprinos u razumevanju uticaja vežbanja uz premedikaciju sa heparinom na razvoj koronarne kolateralne cirkulacije, poboljšanje funkcije leve srčane komore tokom fizičkog opterećenja i na smanjenje simptoma refraktorne srčane angine.

Kod pacijenata sa koronarnom anatomijom gde nije moguće uraditi revaskularizaciju (PCI ili bajpas operacija), dvonedeljno, dvodnevno kontrolisano vežbanje se pokazalo klinički i funkcionalno korisnim za sve uključene pacijente (što je podržano statističkim produženjem vremena vežbanja tokom stres testa, poboljšanom klasom CCS i Duke-ovim skorom), ali samo pacijenti na heparinu poboljšali vreme do depresije segmenta ST-a na EKG-u sa vežbanjem (vreme do ishemije miokarda) i kvalitet života (prema Sietel upitniku o stabilnoj srčanoj angini). U istraživanju je primećeno statistički značajno povećanje CCC samo u grupi bolesnika koji su dobijali heparin i samnjenje ishemije miokarda pri maksimalnom stresu vežbanjem što se ogleda u poboljšanju LVEF, WMSI, i strejna (globalnog i regionalnog longitudinalnog).

Porast vremena vežbanja postignut je kod pacijenata ove studije koronarnim arteriogenetskim tretmanom, pored optimalne medikamentne terapije koja nije bila u stanju da kontroliše simptome. Ova nova terapija može se predložiti kao dodatak standardnom tretmanu

kod pacijenata koji su sposobni da vežbaju i može da reši veliku bezbednosnu opasnost koja je svojstvena angiogenoj terapiji istovremeno promovišući malignu angiogenezu kod okultnih karcinoma.

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 Marije Petrović i odobri njenu javnu odbranu radi sticanja akademske titule doktora medicinskih nauka.

U Beogradu, 23.03.2020.

Članovi Komisije:

Prof. dr Branko Beleslin

Prof. dr Milica Dekleva

Prof. dr Miloje Tomašević

Mentor:

Prof. dr Ana Djordjević Dikić
