

NAUČNOM VEĆU MEDICINSKOG FAKULTETA

UNIVERZITETA U BEOGRADU

Na sednici Naučnog veća Medicinskog fakulteta u Beogradu, održanoj dana 20.05.2021. godine, broj 9700/14-MT, imenovana je komisija za ocenu završene doktorske disertacije pod naslovom:

”Prognostički značaj koronarne rezerve protoka kod bolesnika sa primarnom hipertrofičnom kardiomiopatijom”

kandidata dr Milorada Tešića, zaposlenog u Klinici za kardiologiju, Univerzitetskog 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 Arsen Ristić, 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 doktorske disertacije

Doktorska disertacija dr Milorada Tešića napisana je na ukupno 97 strana i podeljena je na sledeća poglavlja: uvod, ciljevi rada, metodologija istraživanja, rezultati, diskusija, zaključak i literatura. U disertaciji se nalazi ukupno 12 tabela, 13 grafikona i 19 slika. Doktorska disertacija sadrži podatke o mentoru i komisiji, zahvalnicu, sažetak na srpskom i engleskom jeziku i spisak skraćenica korišćenih u tekstu.

U **uvodu** je izneta definicija kardiomiopatija u celini, kao i definicija i istorijat primarne hipertrofične kardiomiopatije (HCM). Opisana su savremena epidemiološka i genetska razmatranja koje se odnose na HCM, a posebno su istaknute morfološke i patofiziološke karakteristike ovog

oboljenja. Detaljno je opisana klinička heterogenost i različite prezentacije bolesnika sa HCM-om kao i metode koje se koriste za dijagnozu, i procenu HCM. Takođe su prikazane različite morfološke i funkcionalne karakteristike HCM između ostalih HCM sa i bez opstrukcije, apikalni i sigmoidni tip hipertrofije, strukturno oboljenje mitralnog valvularnog aparata kao i funkcionalna mitralna regurgitacija kod opstruktivne hipertrofične kardiomiopatije. U posebnom poglavlju je opisana specifična patofiziologija mikrocirkulacije u uslovima hipertrofije miokarda kao i mogućnosti neinvazivne procene koronarne rezerve protoka u različitim oboljenjima. Opisani su poznati faktori rizika uključujući i biomarkere na tok i ishod bolesti kod bolesnika sa hipertrofičnom kardiomiopatijom. Prikazan je detaljan algoritam za izbor lečenja ovih bolesnika koje uključuje medikamentnu terapiju, hirurško ili perkutano lečenje asimetrične hipertrofične kardiomiopatije.

Ciljevi rada su precizno definisani. Ciljevi istraživanja su bili procena prognostičkog značaja transtoraksne Doppler ehokardiografije (TDE) u proceni koronarne rezerve protoka (CFVR) na klinički ishod pacijenata sa HCM. Ciljevi ove studije su obuhvatali i procenu izvodljivosti rezerve koronarnog protoka u prednjoj descendentnoj grani leve koronarne arterije i posterodendentnoj koronarnoj arteriji; određivanje odnosa CFVR sa kliničkim nalazima, morfologijom i funkcijom leve komore procenjene transtoraksnom ehokardiografijom; poredjenje i karakteristike bazalnog, hiperemijskog koronarnog protoka kao i vrednosti CFVR-a kod pacijenata sa opstruktivnom i neopstruktivnom HCM.

U poglavlju **materijal i metode** je navedeno da je prospektivnom studijom obuhvaćena grupa od 150 pacijenata (68 muškaraca i 82 žene) sa primarnom asimetričnom HCM, koji su lečeni na Klinici za kardiologiju, Kliničkog centra Srbije u periodu od januara 2008. do jula 2017. godine. Od ukupnog broja pacijenata, 41 pacijent je imao opstruktivan tip HCM (značajnu opstrukciju izlaznog trakta leve komore (LVOTG)), dok je 109 pacijenata bilo bez značajnog LVOTG-a u miru. Detaljno su navedeni kriterijumi za dijagnozu HCM i kriterijumi na osnovu kojih su pacijenti uključeni u studiju.

Navedeno je da je svim pacijentima koji su uključeni u studiju prilikom prvog ambulantog pregleda ili hospitalizacije urađen klinički i ehokardiografski pregled, laboratorijski nalazi, uključujući i NT-proBNP, EKG, ehokardiogram, 24 časovni holter elektrokardiogram, kao i procena CFVR-a za dva krvna suda. Takođe je radjena koronarografija kod 105 bolesnika, dok je kod ostalih radjena stres ehokardiografija. Detaljno je opisana procedura adenozijskog testa za procenu koronarne rezerve protoka. Na osnovu anamneze i sprovedenih dijagnostičkih procedura ispitivani su klinički pokazatelji prognoze bolesnika sa HCM: prisustvo bola u grudima, sinkope, porodičnog opterećenja za postojanje HCM i naprasnu srčanu smrt, poremećaji srčanog ritma (VT, AF) kao i funkcionalna grupa određena po NYHA klasifikaciji.

Navedeno je da je studija odobrena od strane Etičkog komiteta Medicinskog fakulteta u Beogradu, te da su svi ispitanici dali pismenu saglasnost za uključanje u studiju.

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 252 reference.

B) Provera originalnosti doktorske disertacije

Za proveru originalnosti doktorske disertacije korišćen je program iThenticate i utvrđeno je podudaranje teksta od 6% (similarity index). Ovaj stepen podudarnosti posledica je citata, ličnih imena, bibliografskih podataka o korišćenoj literaturi, tzv. opštih mesta i podataka, kao i prethodno publikovanih rezultata istraživanja kandidata koji su proistekli iz ove doktorske disertacije što je u skladu sa članom 9. Pravilnika o postupku provere originalnosti doktorskih disertacija koje se brane na Univerzitetu u Beogradu („Glasnik Univerziteta u Beogradu“, broj 204/18).

C) Kratak opis postignutih rezultata

Analizirano je 150 bolesnika sa hipertrofičnom primarnom kardiomiopatijom. Pacijenti su podeljeni u 2 grupe na osnovu vrednosti CFVR LAD od 2.0 je uzeta kao granična na osnovu prethodno definisanih dijagnostičkih i prognostičkih graničnih vrednosti. Grupu 1 su činili pacijenti sa očuvanim CFVR LAD > 2 (87 pacijenata) a Grupu 2 pacijenti sa sniženom vrednosti CFVR LAD ≤ 2 (63 pacijenta). Ženski pol ($p=0.012$) i NYHA funkcionalna klasa II ($p=0.003$) su bile statistički zastupljenije u grupi sa smanjenim CFVR LAD. Nije utvrđeno postojanje značajnih razlika u pogledu prisustva herediteta za HCM ili SCD, prisustva angine, sinkope, hipertenzije, aritmija na 24-časovnom praćenju Holter EKG-a ili hemodinamskih parametara. Registrovana je značajna negativna korelacija između maksimalne debljine zida LK i CFVR LAD ($r=-0.300$, $p<0.001$). Takođe, kod pacijenata sa ekstremnom hipertrofijom zida LK ($\geq 30\text{mm}$), registrovano je značajno snižena vrednost CFVR-a za LAD u odnosu na pacijente bez ekstremne hipertrofije zida LK ($\geq 30\text{mm}$) (1.88 ± 0.31 vs 2.15 ± 0.44 , $p=0.036$). Kod HOCM pacijenata - sa značajnom vrednosti LVOTG-a u miru postojala je odlična korelacija između vrednosti LVOTG-a i CFVR LAD ($r=-0.628$, $p<0.001$), kao i između vrednosti LVOTG-a i CFVR PD ($r=-0.410$, $p=0.006$). Registrovana je značajna pozitivna korelacija između CFVR LAD i vrednosti e' lateralnog dela mitralnog anulusa ($r=0.406$, $p<0.001$) i između CFVR PD i e' ($r=0.305$, $p<0.001$), dok je postojala značajna negativna korelacija između E/e' lateranog dela mitralnog anulusa i CFVR LAD ($r=-0.352$, $p<0.001$). Ln vrednost NT-pro-BNP-a je značajno negativno korelirala sa vrednostima CFVR LAD ($r=-0.576$,

$p < 0.001$) i CFVR PD ($r = -0.442$, $p < 0.001$). Kod HOCM pacijenata pokazana je regionalna razlika CFVR-a; CFVR LAD je bio značajno niži u poređenju sa CFVR PD (2.00 ± 0.37 vs. 2.39 ± 0.38 , $p < 0.001$), dok nije bilo značajne razlike između CFVR LAD i CFVR PD kod HCM pacijenata bez opstrukcije izlaznog trakta LK (2.19 ± 0.45 vs. 2.23 ± 0.43 , $p = 0.070$). Sledstveno, vrednosti relativnog CFVR-a su se značajno razlikovale između HOCM i HCM (0.84 ± 0.13 vs. 0.98 ± 0.12 , $p < 0.001$). Tokom medijane praćenja od 88 meseci, 41/150 (27.3%) pacijenata imalo je neželjene srčane događaje. Kod pacijenata sa očuvanom CFVR LAD bilo je 8/87 (9.2%) neželjenih srčanih događaja, dok je kod pacijenata sa sniženim CFVR LAD bilo 33/63 (52.4%, $p < 0.001$ u odnosu na Grupu 1) neželjenih kardiovaskularnih događaja. Kaplan-Meierov-om analizom, pacijenti sa očuvanim CFVR LAD imali su značajno veću kumulativnu stopu preživljavanja bez neželjenog kardiovaskularnog događaja u poređenju sa pacijentima sa sniženim CFVR LAD (96.4% i 90.9% vs 66.9% i 40.0%, na 5, odnosno 8 godina; log-rank 37.2, $p < 0.001$). Multivarijantna analiza je identifikovala samo CFVR LAD ≤ 2 kao nezavisnog prediktora neželjenih kardioloških događaja u HCM populaciji (HR 6.793; 95% CI 3.313-21.542, $p = 0.001$). CFVR PD ≤ 2 nije identifikovan kao prediktor lošeg kliničkog ishoda.

D) Usporedna analiza doktorske disertacije sa rezultatima iz literature

Značaj mikrovaskularne cirkulacije za procenu i prognozu bolesnika sa srčanim oboljenjima je predmet interesovanja brojnih kardioloških istraživanja. Prema literaturi procena miokardne mikrocirkulacije ispitivana je različitim metodama kako u eksperimentalnim tako i u kliničkim studijama. Hipertrofična kardiomiopatija je oboljenje veoma heterogene fenotipske prezentacije koja se može predstaviti spektrom različitih kliničkih manifestacija od asimptomatskih pacijenata koji dožive prosečan životni vek, preko bolesnika sa srčanom insuficijencijom, poremećajima srčanog ritma do krajnjeg ekstrema, iznenadne srčane smrti kod mladih bolesnika. Iz ovih razloga prognostički značaj različitih kliničkih markera je veoma važan za evaluaciju i lečenje ovih bolesnika. Neinvazivna kolor Doppler procena koronarne rezerve protoka (TDE CFVR) jedna je od metoda za procenu mikrocirkulacije.

Rezultati ovog istraživanja ukazuju da je mikrovaskularna disfunkcija, procenjena TDE CFVR LAD, predstavlja nezavisni i snažan prediktor nepovoljnog dugoročnog ishoda kod bolesnika sa HCM-om. Prisustvo smanjenog CFVR LAD omogućilo je identifikaciju podgrupe bolesnika koji su imali gotovo sedmostruki porast rizika od neželjenih srčanih događaja, dok je očuvani CFVR LAD identifikovao pacijente sa povoljnom prognozom. Značajno je da je CFVR LAD ≤ 2 pokazatelj povećanog rizika kako za srčanu smrt tako i za razvoj srčane insuficijencije. Konkretno, mikrovaskularna disfunkcija mogla bi se otkriti godinama pre nego što se dogodi teško kliničko

pogoršanje ili smrt bolesnika. Dakle, CFVR LAD se može smatrati dodatnim markerom nepovoljne prognoze zajedno s dobro poznatim kliničkim (starost, pol, porodična anamneza za SCD, prisustvo sinkope ili NSVT) i ehokardiografskim markerima (prisustvo maksimalno indukovanog LVOTG \geq 50 mmHg, uvećana LAVI, maksimalna debljina zida LK ili prisustvo masivne hipertrofije i umerene MR).

U nekoliko prethodnih studija pokušana je identifikacija dodatnih prognostičkih markera lošijeg kliničkog ishoda (osim onih povezanih sa SCD), poput mase LK i prisustva kasnog pojačanja signala gadolinijuma i fibroze na kardiovaskularnoj magnetskoj rezonanciji, povišene vrednosti E/e' i moždanog natriuretički peptida, kao i povećanje volumena LA. Smanjene vrednosti LA deformacije (konduktivna funkcija i funkcija rezervora) zajedno sa patološkim vrednostima globalne longitudinalne deformacije LK takođe su povezane sa većim rizikom za razvoj nepovoljnih kardiovaskularnih ishoda.

Slično, prisustvo mikrovaskularne disfunkcije, procenjene pozitron emisionom tomografijom (PET), predloženo je kao važan marker rizika, koji je povezan sa kardiovaskularnim neželjenim događajima, uključujući progresiju do srčane insuficijencije, razvoj ventrikularnih aritmija i smrt kod bolesnika sa HCM.

Brojne studije su potvrdile da je bol u grudima i drugi klinički znaci ishemije miokarda u odsustvu epikardne bolesti koronarnih arterija, uobičajeni su nalaz kod bolesnika sa HCM. Ipak u ovoj studiji nije bilo razlike u vrednosti CFVR LAD i CFVR PD između pacijenata koji su imali anginozne tegobe i oni koji su navodili da su bili bez tegoba, što je takođe u saglasnosti sa prethodno objavljenim rezultatima Cecchi F. i saradnika.

Smanjen CFVR važan je fenomen kod HCM, budući da neadekvatan porast protoka krvi u miokardu na zahtev, predisponira pacijente sa HCM-om na ponavljane epizode ishemije. Označene strukturne abnormalnosti intramiokardnih arterija usled hipertrofije medije, hiperplazije intime i neusklađenosti mase i gustine kapilara miokarda smatraju se najvažnijim patofiziološkim supstratom mikrovaskularne disfunkcije i ishemije miokarda. Prema podacima iz literature usporena dijasolna relaksacija LK, kompresija koronarnih arterija tokom kontrakcije miokarda i visok enddijastolni pritisak dodatno pogoršavaju perfuziju miokarda. Upravo je ovo pokazano i u ovoj studiji gde su pacijenti sa sniženim vrednostima CFVR LAD imali znake usporenije relaksacije LK (niže vrednosti e'), viši enddijastolni pritisak LK (više vrednosti E/e', uvećana LA odnosno LAVI uz povišene vrednosti NT-pro-BNP-a) u odnosu na pacijente sa očuvanom vrednošću CFVR LAD. Takođe je pokazana i statistički značajna korelacija između CFVR LAD i CFVR PD sa vrednostima e', E/e' i NT-pro-BNP-a što sve ukazuje na povezanost ovih parametara sa vrednošću CFVR-a za obe arterije. Ekstravaskularnu kompresiju koronarnih krvnih sudova

dodatno pogoršava povišen gradijent izlaznog trakta LK, gde je takođe dobijena negativna korelacija između CFVR LAD i CFVR PD sa vrednošću LVOTG-a što je u skladu sa prethodno objavljenim radovima.

Prema podacima iz literature TDE CFVR ima visok stepen korelacije sa rezervom koronarnog protoka kvantifikovanom PET-om, što je potvrđeno kao neinvazivni referentni standard za merenje CFVR-a. Rezultati ove teze pokazali su da je CFVR LAD omogućio efikasnu stratifikaciju rizika pacijenata s HCM-om, naročito u predikciji kardiovaskularnog mortaliteta i srčane isuficijencije, tokom dugotrajnog praćenja.

Jedina TDE CFVR studija Cortigiani i saradnika, obuhvatila je 68 HCM bolesnika, tokom znatnog kraćeg praćenja (medijana od 22 meseca). Multivarijantom analizom je pokazano da je CFVR LAD ≤ 2 najjači nezavisni prediktor nepovoljnog ishoda.

Podatci ove disertacije potvrđuju i proširuju prethodna saznanja, sa reprezentativnom grupom bolesnika sa HCM-om, dužim praćenjem i čvrstim, dobro definisanim i prilagođenim varijablama ishoda koji nisu uključivali infarkt miokarda, hospitalizaciju zbog nestabilne angine, implantacije kardioverter defibrilatora i pojavu AF ili sinkope. Nadalje, ovo je prvo istraživanje prema saznanju autora, gde je CFVR dobijen i za LAD i za PD, pokazujući sveobuhvatnu procenu uzorka koronarne mikrocirkulacije kod bolesnika sa HCM-om, sa CFVR LAD-om kao odgovarajućim i dovoljnim prediktorom neželjenih događaja.

Identifikacija bolesnika sa smanjenom CFVR LAD mogla bi imati veliku kliničku vrednost kako bi se poboljšala stratifikacija rizika HCM pacijenata i potencijalno uključila mikrovaskularnu disfunkciju u sveobuhvatnije modele rizika. U poređenju sa PET-om kao zlatnim standardom za procenu rezerve koronarnog protoka. TDE CFVR LAD nudi izvodljivu, neinvazivnu, bez zračenja, reproducibilnu metodu za procenu mikrovaskularne disfunkcije sa značajnom diskriminatornom i prediktivnom vrednošću kod bolesnika sa HCM-om.

E) Objavljeni radovi koji čine deo doktorske disertacije

1. **M.Tesic**, A.Djordjevic-Dikic, B.Beleslin, D.Trifunovic, V.Giga, J.Marinkovic, O.Petrovic, M.Petrovic, J.Stepanovic, M.Dobric, V.Vukcevic, G.Stankovic, P.Seferovic, M.Ostojic, B.Vujisic-Tesic. **Regional difference of microcirculation in patients with asymmetric hypertrophic cardiomyopathy: Transthoracic Doppler coronary flow velocity reserve analysis.** J Am Soc Echocardiogr. 2013;26(7):775-782. (M21, IF 4.410)
2. **M.Tesic**, J.Seferovic, D.Trifunovic, A.Djordjevic-Dikic, V.Giga, I.Jovanovic, O.Petrovic, J.Marinkovic, S.Stankovic, J.Stepanovic, A.Ristic, M.Petrovic, N.Mujovic, B.Vujisic-Tesic, B.Beleslin,

V.Vukcevic, G.Stankovic, P.Seferovic. **N-terminal pro-brain natriuretic peptide is related with coronary flow velocity reserve and diastolic dysfunction in patients with asymmetric hypertrophic cardiomyopathy.** J Cardiol 2017;70:323-328. (M22, IF 2.918)

F) Zaključak (obrazloženje naučnog doprinosa)

Glavni rezultat ovog istraživanja ukazuje da mikrovaskularna disfunkcija, procenjena pomoću TDE CFVR LAD, predstavlja nezavistan i snažan prediktor nepovoljnog dugoročnog kardiovaskularnog ishoda kod bolesnika sa HCM-om. Prisustvo snižene vrednosti CFVR LAD ≤ 2 omogućilo je identifikaciju podgrupe bolesnika koji su imali gotovo sedmostruki porast rizika od neželjenih srčanih događaja, dok je očuvani CFVR LAD (>2) identifikovao pacijente sa povoljnom kliničkom prognozom. CFVR LAD ≤ 2 je pokazatelj povećanog rizika, kako za srčanu smrt tako i za razvoj srčane insuficijencije. Izvodljivost ispitivanja TDE CFVR-a je bila 98.7% za LAD i 96.8% za PD arteriju. Tokom izvođenja procedure nisu zabeležene komplikacije.

Nije bilo značajne razlike u ispitivanim kliničkim parametrima (angina, sinkopa, hipertenzija, aritmije na 24-časovnom praćenju Holter EKG-a, hereditet za SCD) sem za NYHA funkcionalnu klasu II koja je bila više zastupljena kod pacijenata sa smanjenim CFVR LAD. Pokazana je značajna negativna korelacija CFVR LAD sa maksimalnom debljinom zida LK, kao i snižena vrednost CFVR LAD kod pacijenata sa ekstremnom hipertrofijom zida LK (≥ 30 mm). Postojala je bolja korelacija CFVR LAD sa LVOTG, stepenom relaksacije LK, pritiskom punjenja LK, kao i vrednostima Nt-pro-BNP-a u odnosu na CFVR PD. Kod bolesnika sa značajnim LVOTG u mirovanju (HOCM) postojala je značajna regionalna razlika u vrednosti CFVR LAD u odnosu na CFVR PD, rezultirajući značajno nižim relativnim CFVR-om u odnosu na HCM pacijente bez opstrukcije. CFVR LAD u potpunosti odražava sve patofiziološke mehanizme HCM-a, bez obzira na tip HCM (sa ili bez opstrukcije). Kao rezultat, prognostička vrednost CFVR LAD je superiornija od CFVR PD, pa se procena CFVR LAD može smatrati dovoljnom u predstavljanju integriteta mikrovaskularne funkcije. Snižene vrednosti CFVR LAD mogu se smatrati dodatnim markerom nepovoljne kardiovaskularne prognoze pacijenata sa HCM-om zajedno sa dobro poznatim kliničkim i ehokardiografskim parametrima.

Najveći naučni doprinos ove teze predstavlja mogućnost procene mikrovaskularne disfunkcije CFVR LAD kao merljivog faktora rizika za nepovoljne kardiovaskularne događaje u fenotipski heterogenoj grupi bolesnika sa HCM-om.

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 Milorada Tešića i odobri njenu javnu odbranu radi sticanja akademske titule doktora medicinskih nauka.

Članovi Komisije:

Prof. dr Branko Beleslin

Mentor: Prof dr Ana Djordjević Dikić

Prof. dr Arsen Ristić

Prof. dr Miloje Tomašević

U Beogradu, 09.06.2021.