

# NASTAVNO-NAUČNOM VEĆU

## MEDICINSKOG FAKULTETA U NIŠU

### Odboru za doktorate

**Predmet:** Stručna ocena i mišljenje o izradjenoj doktorskoj disertaciji dr Dragane Stanojević

Odlukom Nastavno-naučnog veća Medicinskog fakulteta u Nišu, prihvaćen je izveštaj mentora prof. dr Svetlane Apostolović o izradjenoj doktorskoj disertaciji dr Dragane Stanojević iz Niša, pod odobrenim naslovom “Značaj markera endotelne disfunkcije, oksidativnog stresa i inflamacije u dvogodišnjoj prognozi kod bolesnika sa akutnim infarktom miokarda“ i imenovana je komisija za ocenu i odbranu doktorske disertacije u sastavu:

- Prof. dr Dragan Milan Pavlović, predsednik, Medicinski fakultet Niš
- Prof. dr Svetlana Apostolović, mentor i član, Medicinski fakultet Niš
- Prof. dr Sonja Radenković, član, Medicinski fakultet Niš
- Prof. dr Ivana Stojanović, član, Medicinski fakultet Niš
- Prof. dr Slobodan D. Obradović, član, Medicinski fakultet Beograd

U skladu sa ovom odlukom, komisija donosi sledeći

## R E F E R A T

### Opšti podaci

Kandidat dr Dragana Stanojević, lekar specijalista interne medicine zaposlena na Klinici za kardiovaskularne bolesti KC Niš, obavila je istraživanje na Klinici za kardiovaskularne bolesti KC Niš, Centru za medicinsku biohemiju KC Niš, Zavodu za transfuziju krvi Niš i u okviru Instituta za biomedicinska istraživanja Medicinskog fakulteta u Nišu.

### Odnos uradjene disertacije prema prijavi i odobrenju teme

Naslov i sadržaj uradjene doktorske disertacije se u potpunosti podudaraju sa odobrenom temom. Odobreni osnovni cijevi i metodologija rada ostali su nepromenjeni.

### Tehnički opis disertacije

Disertacija je napisana na 122 strane i sastoji se od: Naslovne strane, Podataka o doktorskoj disertaciji sa Sažetkom na srpskom i engleskom jeziku, Pregleda literature, Hipoteze, Cilja, Materijala i

metoda, Rezultata ispitivanja, Diskusije, Zaključka i Literature. Teza sadrži 5 slika, 36 tabela, 16 grafikona i 272 citata, mahom najnovije literature. Tekst je pisan u Microsoft Word 2007, font Times New Roman veličine 12 pt.

### **Karakteristike doktorske disertacije**

Doktorska disertacija dr Dragane Stanojević pod naslovom “Značaj markera endotelne disfunkcije, oksidativnog stresa i inflamacije u dvogodišnjoj prognozi kod bolesnika sa akutnim infarktom miokarda” je originalan i samostalan naučni rad iz oblasti kardiologije, sa dobro postavljenim ciljevima, koji su u skladu sa zadatom temom. Disertacija obuhvata opširan prikaz najnovijih svetskih saznanja iz oblasti upotrebe pojedinih markera endotelne disfunkcije, oksidativnog stresa i inflamacije u prognozi, ali i u dijagnostici akutnog koronarnog sindroma. U realizaciji istraživanja primenjivana je savremena i adekvatna metodologija. Rezultati su temeljno statistički obradjeni i dobro dokumentovani tabelama i grafikonima, a zaključci do kojih se došlo, svakako doprinose boljem sagledavanju intrahospitalne i dvogodišnje prognoze bolesnika sa akutnim infarktom miokarda. Metodologija je adekvatna i detaljno objašnjena tako da omogućava laku proverljivost i reproducibilnost istraživanja. U studiju je uključeno ukupno 108 bolesnika sa akutnim infarktom miokarda, koji su činili eksperimentalnu, odn. kliničku grupu i 30 zdravih ispitanika, koji su činili kontrolnu grupu. Svima je urađen kompletan fizikalni pregled sa analizom rutinskih laboratorijskih parametara i pojedinih biomarkera endotelne disfunkcije, oksidativnog stresa i inflamacije. Bolesnici sa infarktom miokarda su podeljeni na dve pogrupe, odnosno, na bolesnike sa infarktom miokarda sa i bez ST segment elevacije, a bolesnici sa STEMI su sagledavani i sa strane primenjene reperfuzione terapije (primarna perkutana koronarna intervencija, “rescue” perkutana koronarna intervencija i fibrinolitička terapija). Metodologija istraživanja je detaljno opisana i zasnovana na savremenim naučnim principima i dosledno je sprovedena. Svi dobijeni podaci su sređeni i prikazani prema deskriptivnoj statističkoj metodologiji, logističkoj regresionoj analizi i c statistici.

U **uvodnom delu** disertacije se iznose najnoviji podaci o patogenezi ateroskleroze, kao najčešćem uzroku nastanka akutnog infarkta miokarda, koji je vodeći uzrok mortaliteta u ukupnoj svetskoj populaciji. Izneti su i najnoviji literaturni podaci o njenoj bliskoj povezanosti sa procesom endotelne disfunkcije čije se manifestacije, odnosno stepen, mogu odrediti i pomoću biomarkera iz plazme, što može imati značaja u predikciji prognoze kod bolesnika sa akutnim koronarnim sindromom. Kako se ateroskleroza, danas, posmatra kao hronična inflamacija niskog stepena, u čijoj osnovi se, između ostalog, nalazi i oksidativni stres, izneti su objavljeni podaci o solubilnim plazmatskim biomarkerima ovih procesa koji se koriste u prognozi, kako stabilne, tako i nestabilne koronarne bolesti. Posebno se ističe značaj merenja pomenutih biomarkera u subakutnoj fazi infarkta miokarda, tj. trećeg dana od hospitalizacije i razvoja akutnog koronarnog sindroma, kada je većina bolesnika dobila reperfuzionu terapiju. Stoga su posebno sagledani biomarkeri endotelne disfunkcije, oksidativnog stresa i inflamacije kod raličitih modaliteta primenjene reperfuzione terapije u STEMI, koja, neosporno ima uticaja na njihovu koncentraciju, odnosno, aktivnost.

**Cijevi istraživanja** su jasno definisani:

1. Odrediti pojedine markere endotelne disfunkcije, trećeg dana od akutnog infarkta miokarda, kako bi se procenio odnos promene njihovih koncentracija i pojave intrahospitalnih komplikacija i njihov značaj u određivanju dvogodišnje prognoze (mortalitet i rehospitalizacije).

2. Odrediti markere prooksidativne aktivnosti (MDA, AOPP) i antioksidativne aktivnosti (GPx, SOD, CAT, koncentracija T-SH), trećeg dana od akutnog infarkta miokarda, kako bi se procenio odnos promene njihovih koncentracija i pojave intrahospitalnih komplikacija, i njihov značaj u određivanju dvogodišnje prognoze (mortalitet i rehospitalizacije).
3. Odrediti markere inflamacije kod bolesnika sa akutnim infarktomiokarda, u istom vremenskom periodu, i proceniti promene u njihovoj koncentraciji u odnosu na prognozu ovih bolesnika.
4. Odrediti markere hemostaze trećeg dana od akutnog infarkta miokarda i proceniti postojanje porasta njihove koncentracije i njenu udruženost sa intrahospitalnom i dvogodišnjom prognozom.
5. Korelirati vrednosti pojedinih biomarkera oksidativnog stresa, endotelne disfunkcije, inflamacije i hemostaze sa kliničkim manifestacijama akutnog infarkta miokarda.

U poglavlju **materijal i metode** navedene su institucije u kojima je vršeno istraživanje, broj obradjenih bolesnika, podela i karakteristika grupa. Jasno su definisani kriterijumi za uključivanje, tj isključenje iz studije, kao i kriterijumi za uključivanje u kontrolnu grupu, koja je uparena po starosti i polu. Dat je detaljan opis metoda određivanja pojedinih biomarkera, kao i dijagnostičkih procedura koje odgovaraju u potpunosti najsavremenijim standardima za postavljanje dijagnoze i praćenje bolesnika sa akutnim infarktomiokarda (tokom inicijalne hospitalizacije i dve godine praćenja ispitanika). Dat je detaljan pregled statističkih metoda i principa koji su korišćeni u analizi podataka.

**Rezultati** su prikazani tabelama i grafikonima. Najveći broj pacijenata imao je infarkt miokarda sa ST segment elevacijom, koji su pdvrgnuti primarnoj ili rescue PCI, sa culprit lezijom lociranom na LAD ili u sistemu desne koronarne arterije.

Među antioksidativnim enzimima, jedino je superoksid-dizmutaza imala značajno veću aktivnost u kliničkoj grupi, dok je GPx imala značajno nižu aktivnost u odnosu na kontrolnu grupu. Nitrati i nitriti i malndialdehid su bili značajno viši kod bolesnika sa AIM. Tiolne grupe su bile značano niže u eksperimentalnoj grupi. Endotelin-1 i UACR su bili niži u kliničkoj grupi, međutim bez statističke značajnosti.

Lakši ili teži oblik intrahospitalnih komplikacija doživelo je 48% bolesnika. Mehaničke komplikacije - ruptura mitralnog kuspisa i pripadajuće horde, ehokardiografski uočene komplikacije (aneurizma leve komore u ranom toku akutnog infarkta miokarda i tromb u levoj komori) su nađeni kod 12,9 % bolesnika, dok je 4,6% imalo reinfarkt i to na terenu in-stent tromboze. Srčane aritmije i poremećaji sprovođenja impulsa su nađeni kod 22% bolesnika. Aritmije i sprovodne smetnje su uključivale ventrikularnu fibrilaciju, ventrikularnu tahikardiju (pre reperfuzione terapije) i ugradnju stalnog pejsmejkera (što je klasifikovano kao teži poremećaj srčanog ritma ili sprovođenja), ali i paroksizme brze atrijalne fibrilacije i drugih formi supraventrikularnih tahikardija, idioventrikularni ritam, tranzitorni AV blok II i III stepena koji nije zahtevao implantaciju stalnog pejsmejkera. Pored sniženog sistolnog i dijastolnog krvnog pritiska, kao i TIMI protoka 1 vs. TIMI protoka 3, sa povišenim rizikom od intrahospitalnih komplikacija su bili udruženi povišen ET-1, sniženi trigliceridi, protein C i AOPP u univarijantnom regresionom modelu. U multivarijantnom modelu su se kao nezavisni prediktori za pojavu intrahospitalnih komplikacija izdvojili jedino sniženi uznapredovali produkti proteinske oksidacije.

Tokom dve godine praćenja 12% bolesnika je umrlo, od čega je njih 2,8% umrlo tokom inicijalne hospitalizacije. Svi bolesnici, sem jednog koji je umro na gastroenterološkoj klinici usled masivnog krvarenja iz želudačnih ulceracija, su umrli zbog kardiovaskularnih komplikacija. Kod bolesnika koji su umrli tokom dve godine praćenja, ET-1, SOD i D-dimer su bili značajno povišeni, dok su vrednosti AOPP i SH bile značajno snižene. U univarijantnoj analizi, starost, povišene vrednosti D-dimera, SOD, ET-1, UACR i kreatinina, prisustvo makroalbuminurije, Kilip klasa 4 vs. Kilip klasa 1, prisustvo prethodno verifikovane angine pektoris u anamnezi, preležan CVI, „*de novo*“ dijagnostikovani diabetes mellitus su povećavali rizik od dvogodišnjeg mortaliteta u univarijantnoj analizi, koji je bio povišen i kod bivših pušača (u odnosu na aktuelne). Povišen rizik je bio udružen i sa nižim vrednostima hemoglobina i tiolnih grupa. U multivarijantnoj analizi svoju prediktivnu nezavisnost su zadržali SOD (svako povećanje za 1 jedinicu je udruženo sa povećanjem rizika za 0,3%), tiolne grupe (svako smanjenje za 1 jedinicu je udruženo sa povećanjem rizika za 3,8%), UACR (čije povećanje za 1 jedinicu jeste udruženo sa povišenim rizikom za 7,6%), dok je prisustvo angine pektoris povećavalo rizik za 92,5%. Povišene vrednosti ET-1, UACR, snižene vrednosti kalijuma i prisustvo makroalbuminurije su bili udruženi sa intrahospitalnim mortalitetom. U multivarijantnom modelu se kao nezavisan prediktor mortaliteta izdvojio UACR.

Cox regresiona analiza je pokazala da postoji razlika u preživljavanju između bolesnika sa vrednostima ET-1 ispod i iznad 75. percentila. U Cox-regresionoj analizi, verovatnoća preživljavanja bez mortaliteta i bolničkih komplikacija je bila značajno veća kod bolesnika sa ET-1 ispod 75.og percentila (3,77 pg/mL).

Tokom dve godine praćenja, 25% bolesnika je bilo rehospitalizovano, od kojih je 12,9% imalo više od jedne rehospitalizacije. U univarijantnoj analizi snižene vrednosti NOx, ejekcione frakcije leve komore, prisustvo angine pektoris i preležanog infarkta miokarda u anamnezi, kao i prisustvo intrahospitalnih komplikacija je bilo udruženo sa povišenim rizikom od rehospitalizacija tokom dve godine praćenja. U multivarijantnoj analizi svoju nezavisnu prediktivnu ulogu su zadržali snižena ejekciona frakcija leve komore i prisustvo preležanog infarkta miokarda u anamnezi.

Degradacioni produkti NO, ET-1 i UACR nisu korelisali sa markerima oksidativnog stresa. Nađena je pozitivna korelacija tiolnih grupa i AOPP, kao i tiolnih grupa i MDA. Nađena je bliska korelacija markera inflamacije, nekroze miokarda, hemodinamskog opterećenja (BNP) i endotelne disfunkcije vWF. Endotelin-1 je pozitivno korelisao sa TnI, BNP i brojem leukocita.

**Diskusija rezultata** je u skladu sa metodologijom drugih studija koje ispituju odnos između prisustva kliničkih komplikacija nakon preležanog infarkta miokarda i biomarkera endotelne disfunkcije, oksidativnog stresa i inflamacije. Doktorant je diskutovao rezultate svog istraživanja poredeći ih sa rezultatima savremenih studija.

Navedeni **zaključci** proističu iz rezultata rada i otvaraju nove perspektive u smislu bolje procene kako kratkoročne, tako i dugoročne dvogodišnje prognoze kod bolesnika sa akutnim infarktomiokarda upotrebom strategije multimarker pristupa.

Poslednje poglavje **literatura** sadrži 272 reference, uglavnom novijeg datuma sa engleskog govornog područja.

## **Zaključak komisije**

Kandidat dr Dragana Stanojević, autor doktorske disertacije pod nazivom „**Značaj markera endotelne disfunkcije, oksidativnog stresa i inflamacije u dvogodišnjoj prognozi kod bolesnika kod bolesnika sa akutnim infarktom miokarda**“ iskazala je sposobnost za korišćenje metodologije naučnoistraživačkog rada i korišćenje najsavremenije literature. Svojim originalnim radom dala je doprinos u praćenju prognoze pacijenata sa akutnim infarktom miokarda, koji danas predstavlja jedan od vodećih uzroka morbiditeta i mortaliteta u svetu. Multimarker pristup u akutnom infarktu miokarda pruža informacije o intrahospitalnoj, ali i dvogodišnjoj prognozi, te pomaže boljem sagledavanju profila rizika bolesnika i potrebi o intervenisanju u cilju sprečavanja potencijalnih komplikacija bolesti.

Na osnovu navedenog, komisija za ocenu doktorske disertacije prihvata i pozitivno ocenjuje doktorsku disertaciju, te daje predlog Nastavno-naučnom veću Medicinskog fakulteta da prihvati urađenu disertaciju i donese odluku o njenoj odbrani.

Komisija za ocenu i odbranu doktorske disertacije u sastavu:

**- Prof. dr Milan Pavlović, predsednik, Medicinski fakultet Niš**

---

**- Prof. dr Svetlana Apostolović, mentor i član, Medicinski fakultet Niš**

---

**- Prof. dr Sonja Radenković, član, Medicinski fakultet Niš**

---

**- Prof. dr Ivana Stojanović, član, Medicinski fakultet Niš**

---

**- Prof. dr Slobodan D Obradović, član, Medicinski fakultet Beograd**

---

## **Glavni naučni doprinos doktorske disertacije**

Originalan i jedinstven naučni rad, dobro koncipiran, sa jasno definisanim ciljevima i rezultatima, od značaja je kako za naučnu javnost, tako i za kliničku praksu. Ovo se odnosi na prognozu bolesnika sa akutnim infarktom miokarda i to kako intrahospitalnu, tako i dvogodišnju. Nije nađen jedinstveni marker koji odražava sve procese uključene u nastanak destabilizacije aterosklerotskog plaka i pojavu akutnog koronarnog događaja. Integrativni multimarker pristup, koji pored markera nekroze miokarda, uključuje i biomarkere endotelene disfunkcije, oksidativnog stresa i inflamacije, daje bolji uvid u prognozu bolesnika. To omogućuje blagovremenu primenu adekvatnih terapijskih postupaka u kliničkoj praksi u cilju smanjenja morbiditeta i mortaliteta.

## **Main scientific contribution of the doctoral dissertation**

Original and unique scientific work, well designed, with clearly defined aims and results, is important both for the scientific community and for the clinical practice. This is related to the intrahospital and two-year prognosis in patients with acute myocardial infarction. A single marker that would reflect all the processes involved in the destabilization of atherosclerotic plaque and the occurrence of acute coronary events is not yet found. Multimarker integrative approach, which includes not only markers of myocardial necrosis, but biomarkers of endothelial dysfunction, oxidative stress and inflammation as well, provides a better insight into the prognosis. This allows timely application of the adequate therapeutic procedures in clinical practice in order to reduce morbidity and mortality.

### **Mentor:**

Prof. dr Svetlana Apostolović \_\_\_\_\_

**Broj publikovanih radova: 15**

### **Autorski rad dr Dragane Stanojević sa SCI liste iz teme doktorske disertacije:**

*Dragana Stanojević, Svetlana Apostolović, Sonja Šalinger-Martinović i sar. ENDOTHELIN-1 AND NITRIC OXIDE IN 3-YEAR PROGNOSIS AFTER ACUTE MYOCARDIAL INFARCTION 2015; 19.01.2016; Prihvaćen za štampu u Vojnosanitetskom pregledu*