

NAUČNO Istraživačko Centar
U MEDICINSKOG FAKULTETA
UNIVERZITETA U BEOGRADU

Na sednici Naučnog i Istraživačkog Centra Medicinskog fakulteta u Beogradu, održanoj dana 03.11.2014. godine, broj 4600/11, imenovana je komisija za ocenu završene doktorske disertacije pod naslovom:

„Analiza kardiovaskularnih događaja kod bolesnika sa primarnim i sekundarnim antifosfolipidnim sindromom“

kandidata Mr dr Aleksandre Đoković, zaposlene na Medicinskom fakultetu u Beogradu kao klinički asistent na katedri za Internu medicinu - kardiologija i u Kliničko bolničko centru “Bežanijska kosa” u Beogradu u Odseku za interventnu kardiologiju. Mentor je Prof. dr Dragan Simić, komentor je N.Sav Dr Ljudmila Stojanović.

Komisija za ocenu završene doktorske disertacije imenovana je u sastavu:

1. Prof. dr Siniša Pavlović, profesor Medicinskog fakulteta u Beogradu
2. Doc. dr Arsen Ristić, profesor Medicinskog fakulteta u Beogradu
3. Prof. dr Mihajlo Matić, profesor Medicinskog fakulteta u Beogradu, u penziji

Na osnovu analize priložene doktorske disertacije, komisija za ocenu završene doktorske disertacije jednoglasno podnosi Naučnom vešću u Medicinskom fakultetu sledeće i

IZVEŠTAJ

A) Prikaz sadržaja doktorske disertacije

Doktorska disertacija Mr sci dr Aleksandre Đoković napisana je na 119 strana i podeljena je na sledeća poglavlja: uvod, ciljevi rada, bolesnici i metodologija ispitivanja, rezultati, diskusija, zaključci i literatura. Doktorska disertacija sadrži sažetak na srpskom i engleskom jeziku, biografiju kandidata, podatke o komisiji i spisak skraćena imena korišćena u tekstu.

U **Uvodu** na 20 strana teksta sa 3 slike i 3 tabele Mr sci dr Aleksandra Đoković definiše pojam antifosfolipidnog sindroma uvedenog u medicinsku literaturu i praksu pre nešto više od 30 godina. Sagledane su istorijske činjenice u procesu njegovog formulisanja kao i aspekti dijagnoze različitih oblika ovog sindroma. Antifosfolipidni sindrom (AFS) je autoimunska poremećaj koji se klinički karakteriše rekurentnim trombozama (venskim i/ili arterijskim) i/ili rekurentnim spontanim pobaćajima, a laboratorijski, perzistentno povišenim antifosfolipidnim antitelima (aFL) (značajan porast ovih antitela najmanje 2 puta u periodu od 12 nedelja). AFS se može ispoljiti kao primarni i sekundarni. Primarni (PAFS) nastaje kao zasebno oboljenje dok je sekundarni (SAFS) prisutan u sklopu drugih oboljenja. U uvodu se detaljno analizira

ne samo prokoagulantni već i proinflamatorni efekat antifosfolipidnih antitela koji doprinosi da kliničke manifestacije antifosfolipidnog sindroma budu ne samo posledice tromboza arterijskih ili venskih krvnih sudova već i koronarna bolest. PAFS i SAFS, kao glavni oblici ispoljavanja su precizno definisani sa osvrtom na nove oblike ovog sindroma koji su aktuelni predmet diskusije naučne javnosti. Kako AFS pokriva sve krvne sudove promene na srcu su relativno česta manifestacija antifosfolipidnog sindroma i javljaju se kako kod PAFS tako i kod SAFS.

Posebno su izdvojeni savremeni literaturni podaci kada je reč o ključnim manifestacijama ovog sindroma a to su promene na srčanim valvulama i koncept ubrzane ateroskleroze uz analizu ostalih kardioloških manifestacija opisanih u okviru ovog sindroma.

Na kraju ovog poglavlja iznete su dijagnostičke mogućnosti kao i savremeni pristupi u lečenju ovih bolesnika sa posebnim naglaskom na kardiološku problematiku.

Ciljevi rada su precizno definisani. Ciljevi ove studije bili su određivanje učestalosti kardiovaskularnih događaja (uključujući i valvularne promene, trombozu srca i koronarnu bolest) kod bolesnika sa PAFS i SAFS (u okviru Sistemskog eritemskog lupusa (SEL)) sa uporednom analizom rezultata između ovih grupa. Takođe, cilj rada je bio određivanje postojanja korelacije između nivoa aFL i pojave određenih kardiovaskularnih događaja kao i utvrđivanje potencijalne prediktivne vrednosti nekog od aFL za pojavu novih kardiovaskularnih događaja.

Korišćene metode za dijagnozu SEL i AFS, definisanje standardnih faktora rizika kao i određivanje aFL: lupus antikoagulans (LA), antikardiolipinska antitela (aKL) i anti-2-

glikoprotein-I antitela (a 2GP-I). detaljno su prikazane na 12 stranai 6 tabela u poglavlju **Bolesnici i metodologija ispitivanja**. Posebno su obrađene metode za dijagnozu kardiovaskularnih manifestacija: transtorakalni ehokardiografski pregled, protokom izazvana dilatacija brahijalne arterije, ultrazvučni pregled karotidnih arterija i 24h HOLTER monitoring EKG-a.

Rezultati istraživanja su iscrpno i pregledno prikazani na 51 strani, uključujući i 44 tabele i 19 grafikona.

Rezultati su detaljno analizirani i veoma kritički diskutovani u poglavlju **Diskusija** na 13 strana teksta. Neki rezultati ovog istraživanja su upoređeni sa postojećim podacima iz literature, i tom prilikom analizirani i su objavljeni ponekad kontradiktorni rezultati iz literature.

Zaključci sažeto prikazuju najvažnije nalaze koji su proistekli iz rezultata rada. A korišćena **literatura** sadrži spisak od 163 reference.

B) Kratak opis postignutih rezultata

Ovo istraživanje pokazalo je da bolesnici sa PAFS i SAFS-om imaju širok spektar mogućih kardiovaskularnih manifestacija. Bolesnici sa SAFS su statistički značajno u većini imali valvularne promene u odnosu na bolesnike sa PAFS.

Izuzetno važno zapažanje ti je se subkliničkih promena. Promene koje ukazuju na postojanje subkliničke ateroskleroze (disfunkcija endotela procenjena merenjem dilatacije brahijalne arterije, povećana debljina intime i medije na karotidnim arterijama i prisustvo plakova na njima) su bile ravnomerno zastupljene u PAFS i SAFS grupi izuzev ehokardiografskih parametara dijastolne funkcije leve komore koji su u većini u patološkim vrednostima bili zastupljeni u SAFS grupi.

Među PAFS i SAFS bolesnicima nije bilo značajne razlike ni kada je reč o klinički manifestovanoj uznapredovaloj aterosklerozi u vidu manifestacija koronarne bolesti, i morfoloških i funkcionalnih promena na srčanom mišiću. Tromboza srca registrovana je kod jednog bolesnika iz PAFS grupe. Poremećaji ritma i provodjenja detektovani 24h Holter monitoringom EKG-a su bili podjednako prisutni u kod PAFS i SAFS bolesnika ove kohorte.

Ono što je svakako bitno zapažanje ovog istraživanja je da su broj i tip aFL bili statistički značajno povezani sa nekim kardiovaskularnim manifestacijama ali ne i visina titra ukazujući na vrlo značajno zapažanje da je prisustvo aFL u bilo kom titru bitno za patogenezu nastanka pojedinih kardiovaskularnih manifestacija. Izuzetno originalan rezultat je proistekao je analizom potencijalnog prediktivnog značaja pojedinih aFL. U ovoj studiji utvrđeno je da

su AFS bolesnici sa prisutnim aKL IgG bili pod većim rizikom od razvoja novih kardiovaskularnih događaja.

C) Uporedna analiza doktorske disertacije sa rezultatima iz literature

Valvularne promene predstavljaju dominantnu kardijalnu manifestaciju AFS-a. U revijalnom radu Hojnik i sar. analizirane su četiri velike studije bolesnika sa PAFS u kojima je korišten transtorakalni ehokardiografski pregled (Hojnik M i sar. 1996). Meta analiza je obuhvatila 168 PAFS bolesnika kod kojih se prevalenca valvularnih promena kretala od 32 do 38% u poređenju sa 0–5% kod zdravih kontrola. Promene su najčešće bile locirane na levom srcu i to predominantno na mitralnoj valvuli. U ovom istraživanju prevalenca valvularnih promena koje su obuhvatala i valvularnu disfunkciju i zadebljanje valvularnih kuspisa, u PAFS grupi iznosila je 26.7% u PAFS i 42.5% u SAFS grupi a razlika je bila statistički značajna. Nema su praktično potvrđeni rezultati prethodnih studija koje su pokazale da se valvularne promene daleko češće javljaju kod SLE bolesnika sa SAFS, u odnosu na PAFS bolesnike.

Koncept ateroskleroze kao inflamatorne i autoimmune bolesti doprineo je i razumevanju ubrzane ateroskleroze kod bolesnika sa autoimunim oboljenjima, pre svega kod bolesnika sa reumatskim autoimunim oboljenjima kod kojih niska prevalenca Framingamskih klasičnih faktora rizika istu nije mogla u potpunosti da objasni (Libby P i sar.2008). Ovaj koncept u potpunosti je prihvaćen i kada je reč o AFS-u.

Rezultati brojnih studija potvrdili su da bolesnici sa autoimunim oboljenjima imaju ve u prevalencu kako subkliničke (promene na karotidnim arterijama) tako i kliničke forme aterosklerotske bolesti (infarkt miokarda), u odnosu na opštu populaciju (Roman MJ i sar., 2001).

Između u ispitivanih grupa AFS bolesnika nije bilo razlike kada je re o procentu endotel zavisne (FMD) i endotel nezavisne (NMD) dilatacije brahijalne arterije. O ekivano, procenat FMD u našoj kohorti AFS bolesnika visoko statistički zna ajno je korelirao sa starosnom dobi ispitanika i vrednostima glikemije, grani no sa vrednostima triglicerida i ukupnog holesterola, a me u faktorima rizika ateroskleroze hipertenzija i hiperlipoproteinemija su sa visokom statističkom zna ajnoš u uticale na pojavu FMD disfunkcije endotela. Tako e, analiza srpske kohorte AFS bolesnika pokazala je da između u SAFS i PAFS bolesnika nije bilo statistički zna ajne razlike u prose nim vrednostima debljine intime i medije karotidnih arterija na razli itim delovima karotidnog stabla. Prevalenca zadebljanja zida karotidnih arterija koja nije bila u skladu sa starosnom dobi je bila sli na a prisustvo plakova se tako e nije statistički zna ajno razlikovalo između u PAFS i SAFS bolesnika. Literaturni podaci se uglavnom odnose na potvrdu postojanja ubrzane ateroskleroze u AFS bolesnika pore njem sa zdravom populacijom (Ambrosino P i sar, 2014, Stalz M i sar 2011) a isti se ne pronalaze kada je re o pore njenu PAFS i SAFS populacije.

Analiza parametara dobijenih transtorakalnim ehokardiografskim pregledom pokazala je prose ne vrednosti mase leve komore, dijametara levih i desnih sr anih šupljina te vrednosti istisne frakcije leve komore (EF LK) i frakcije skra enja (FS) u obe ispitivane grupe

granicama normalnim za starosnu dob. PAFS i SAFS bolesnici u ovoj studiji međusobno nisu značajno razlikovali kada je rečeno o navedenim parametrima. Prosečna vrednost volumena leve komore u dijasoli je u SAFS bolesnika je bila nešto veća od prosečne vrednosti dobijene u PAFS grupi ali bez statističke značajnosti razlike.

Prevalenca dilatiranih levih srčanih šupljina je u PAFS grupi iznosila 7.9% a u SAFS grupi 6.2%, bez statističke značajnosti razlike. Statistički značajne razlike nije bilo ni kada je rečeno o postojanju sistolne disfunkcije, dilatacije desnih srčanih šupljina te postojanja kardiomiopatije koja je u ovoj studiji bila zastupljena kod 6.9% PAFS i 6.2% SAFS bolesnika što je u korelaciji sa publikovanim rezultatima (Silbiger JJ i sar, 2009).

Mnogo pre ispoljavanja jasnih morfoloških promena na miokardu u kardiovaskularnom kontinuumu promene započinjaju na molekularnom i subkliničkom nivou kada bolesnici nemaju vidljive manifestacije kardiovaskularnog oboljenja. Tromboza sitnih krvnih sudova u bolesnika sa AFS-om može dovesti do nastanka hipertrofije miokarda i njegove disfunkcije. U ovom istraživanju analizirani su parametri transmitalnog i transtrikuspidnog protoka i određivano postojanje dijasolne disfunkcije leve komore. Utvrđeno je da su SAFS bolesnici imali statistički značajno niže prosečne vrednosti E/A odnosa i statistički značajno veće vrednosti brzine A talasa što je rezultiralo i većom detekcijom dijasolne disfunkcije u ovih bolesnika u odnosu na PAFS grupu. Literaturni podaci dokumentuju značajno veću postojanje dijasolne disfunkcije u PAFS bolesnika u odnosu na zdrave ispitanike (Hasnie AM i sar, 1995). Činjenica da su promene dijasolnog punjenja leve komore u našoj studiji bile izraženije u bolesnika sa SAFS bi se mogla objasniti

i dodatnim inflamatornim procesom koji je odsutan kod bolesnika sa PAFS autoimunskim teretom u ovoj grupi bolesnika.

U ovoj studiji, prisustvo premeaja ritma i provo enja je bilo podjednako zastupljeno u PAFS i SAFS grupi. Nije bilo razlike u vrsti poremeaja ritma izme u ispitivanih grupa bolesnika a prose ne vrednosti minimalne, maksimalne i prose ne sr ane frekvence su bile nešto ve e u SAFS grupi ali bez statisti ke zna ajnosti razlike.

Prose ne vrednosti parametara varijabiliteta sr ane frekvence (engl. heart rate variability, HRV) se nisu razlikovale izme u dve grupe ispitanika a LF/HF odnos je bio nešto niži u obe grupe isptanika ukazuju i na blagi simpatovagalni disbalans. U radu Yorgun H i sar. vrednosti HRV parametara u SLE bolesnika su bile zna ajno niže u odnosu na zdrave ispitanike izuzev LF/HF odnosa koji je bio zna ajno viši.

Kona no, ve spomenuto bitno zapažanje ovog istraživanja je da su broj i tip aFL bili statisti ki zna ajno povezani sa nekim kardiovaskularnim manifestacijama ali ne i visina titra. ukazuju i na vrlo zna ajno zapažanje da je prisutvo aFL u bilo kom titru bitno za patogenezu nastanka pojedinih kardiovaskularnih manifestacija.

Prisustvo aKL IgG aFL u ovoj studiji je bilo u zna ajnoj vezi sa pojavom infarkta miokarda. Rezultat je u saglasnosti sa rezultatima brojnih studija koje su potvrdile povezanost ovog tipa aFL sa manifestacijama koronarne bolesti (Artenjak A i sar 2012). S druge strane, kategorije aFL kao i visina titra aFL nisu bile u zna ajnoj vezi sa analiziranim doga ajima.

Izuzetno originalan rezultat proistekao je analizom potencijalnog prediktivnog značaja pojedinih aFL. U ovoj studiji utvrđeno je da su AFS bolesnici sa prisutnim aKL IgG bili podvećim rizikom od razvoja novih kardiovaskularnih događaja (engl. major adverse cardiovascular events, MACE).

Bilić i saradnici su analizirali prospektivni značaj aKL u nastanku novih kardiovaskularnih događaja na seriji od 1150 bolesnika sa preležanim IM bez dijagnoze AFS u prosečnom periodu praćenja od 24.6 meseci (Bilić A i saradnici, 2000.). Utvrdili su da je prisustvo aKL IgG trostruko povećalo rizik od nastanka novog kardiovaskularnog događaja u ovoj kohorti bolesnika. U studiji mr sci dr Aleksandre Đoković, prisustvo aKL IgG kod AFS bolesnika bio je nezavisan prediktor nastanka novih kardiovaskularnih događaja.

D) Objavljeni radovi koji čine deo doktorske disertacije

1. **Djokovic A, Stojanovich L**, Stanisavljevic N, Bisenic V, Radovanovic S, Soldatovic I, **Simic DV**. Does the presence of secondary antiphospholipid syndrome in patients with systemic lupus erythematoses accelerate carotid arteries intima-media thickness changes? *Rheumatol Int.* 2014 Mar;34(3):321-7.
2. **Djokovic A, Stojanovic L**, Kontic M, Stanisavljevic N, Radovanovic S, Marisavljevic D. Association Between Cardiac Manifestations and Antiphospholipid Antibody Type and Level In a Cohort of Serbian Patients with Primary and Secondary Antiphospholipid Syndrome. *Isr Med Assoc J.* 2014 Mar;16(3):162-7.

3. **Stojanovich L, Djokovic A.** Tomography and blood vessels in Hughes syndrome. *Lupus*. 2014 Apr;23(4):337-41.
4. **Stojanovich L, Kontic M, Smiljanic D, Djokovic A, Stamenkovic B, Marisavljevic D.** Association between non-thrombotic neurological and cardiac manifestations in patients with antiphospholipid syndrome. *Clin Exp Rheumatol*. 2013;31(5):756-60.
5. **Stojanovich L, Kontic M, Djokovic A, Marisavljevic D, Ilijevski N, Stanisavljevic N, Mikovic Z, Petkovic M, Kovcin V.** Association between systemic non-criteria APS manifestations and antibody type and level: results from the Serbian national cohort study. *Clin Exp Rheumatol*. 2013;31(2):234-42.
6. **Stojanovich L, Kontic M, Djokovic A, Ilijevski N, Stanisavljevic N, Marisavljevic D.** Pulmonary events in antiphospholipid syndrome: influence of antiphospholipid antibody type and levels. *Scand J Rheumatol*. 2012;41(3):223-6.
7. Saponjski J, **Stojanovich L, Djokovic A, Petkovic M, Mrda D.** Systemic vascular diseases in the antiphospholipid syndrome. What is the best diagnostic choice? *Autoimmun Rev*. 2011 Feb;10(4):235-7.
8. **Stojanovich L, Marisavljevic D, Rovensky J, Djokovich A, Kozáková D, Milinic N.** Clinical and laboratory features of the catastrophic antiphospholipid syndrome. *Clin Rev Allergy Immunol*. 2009 Jun;36(2-3):74-9.

E) Zaključak (obrazloženje naučnog doprinosa)

Doktorska disertacija „**Analiza kardiovaskularnih događaja kod bolesnika sa primarnim i sekundarnim antifosfolipidnim sindromom**“, Mr sci dr Aleksandre Đoković predstavlja originalni naučni doprinos u detaljnoj analizi srpske kohorte AFS bolesnika kada je reč o kardiovaskularnim manifestacijama. Od velikog praktičnog kliničkog značaja je shvatanje da ova populacija bolesnika koju predominantno čine žene prosečne starosne dobi manje od 45 godina i niske prevalencije klasičnih aterosklerotskih faktora rizika, zahteva sveobuhvatnu evaluaciju kardiovaskularnog statusa, redovno kardiološko praćenje i agresivnu redukciju postojećih faktora rizika ateroskleroze, naročito kod AFS bolesnika sa prisutnim aKL IgG bez obzira na visinu titra.

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 imajući u vidu dosadašnji naučni rad kandidata, komisija predlaže Naučnom vešću Medicinskog fakulteta Univerziteta u Beogradu da prihvati doktorsku disertaciju mr sci dr Aleksandre Đoković i odobri njenu javnu odbranu radi sticanja akademske titule doktora medicinskih nauka.

U Beogradu, 22.12.2014.

lanovi Komisije:

Prof. dr Siniša Pavlovi

Doc. dr Arsen Risti

Prof. dr Mihajlo Mati

Mentor:

Prof. dr Dragan Simi

Komentor:

N.Sav Dr Ljudmila Stojanovi
