

**NAUČNOM VEĆU MEDICINSKOG FAKULTETA
UNIVERZITETA U BEOGRADU**

Na sednici Naučnog veća Medicinskog fakulteta u Beogradu, održanoj dana 28.04. 2016. godine, broj 5940/4 imenovana je Komisija za ocenu završene doktorske disertacije pod naslovom:

**„UTICAJ RAZLIČITIH OPERATIVNIH TEHNIKA TOKOM HIRURŠKE
REVASKULARIZACIJE MIOKARDA NA OKSIDATIVNI STRES I
ANTIOKSIDATIVNU ZAŠTITU”**

kandidata Mr sci med dr Petra Vukićevića, zaposlenog u Klinici za kardiohirurgiju VMA u Beogradu, kao lekar specijalista opšte hirurgije i subspecijalista za kardiohirurgije. Mentor je Doc. dr Aleksandar Mikć.

Komisija za ocenu završene doktorske disertacije imenovana je u sastavu:

1. Prof.dr Tatjana Simić, Medicinski fakultet, Univerzitet u Beogradu
2. Prof. dr Milan Petrović, Medicinski fakultet, Univerzitet u Beogradu
3. Prof dr Radoje Ilić, Medicinski fakultet VMA, Univerziteta odbrane 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 doktorske disertacije

Doktorska disertacija Mr sci med dr Petra Vukićevića napisana je na 205 strana i podeljena je na sledećih 9 poglavlja: uvod, hipoteza, cilj rada, metodologija (materijal i metode), rezultati, diskusija, zaključak, literatura i prilog. U doktorskoj disertaciji se nalazi ukupno 51 tabela i 44 slike. Doktorska disertacija sadrži sažetak na srpskom i engleskom jeziku, biografiju kandidata, podatke o komisiji i spisak skraćenica korišćenih u tekstu.

U **uvodu** je definisan značaj ateroskleroze i koronarne bolesti kod nas i u svetu, kao i aktuelna uloga hirurške revaskularizacije miokardau savremenoj medicini. Takođe, prikazan je istorijat i najčešće korišćene hirurške tehnike tokom razvoja kardiohirurgije. Istaknute su dve najčešće korišćene tehnike u tokom hirurške revaskularizacije miokarda u savremenoj kardiohirurgiji, koje su bile tema ove disertacije.

Sa druge strane, definisan je i objašnjen uticaj slobodnih radikala i oksidativnog stresa na organizam, vrste slobodnih radikala i njihove osobine, kao i fiziološka i štetna uloga slobodnih radikala na organizam. Jasno i sažeto su prikazani osnovni pokazatelji oksidativnog stresa, kao i mehanizmi antioksidativne zaštite i antioksidativni sistemi organizma. Ukratko je prikazan uticaj inflamatornog odgovora i oksidativnog stresa kod hirurških procedura per se.

Detaljno je objašnjen je uticaj koršćenja pumpe za kardiopulmonalni bajpas (CPB) tokom kardiohirurških operacija. Istaknute su dobre i lošije strane upotrebe pumpe za CPB, zaustavljanja srca i protoka krvi kroz srce i pluća, kao i uticaj reperfuzionih fenomena na organizam. Objašnjena je pojava pokretanja inflamatorne i koagulacione kaskade, kao i oksidativnog stresa uzrokovnog primenom pumpe za CPB. Takođe, detaljno su objašnjene do sada korišćene tehnike tokom hirurške revaskularizacije na kucajućem srcu, koncepti ekspozicije srca i ciljne arterije, stabilizacije srca tokom šivenja anastomoza, kao i protekcije miokarda tokom revaskularizacije miokarda na kucajućen srcu. Isto tako, objašnjeni su koncepti i razlozi korišćenja ove dve operative tehnike od strane različitih kardiohirurga.

Navedeni su dosadašnji rezultati istraživanja i opisani patofiziološki procesi sa posebnim osvrtom na oksidativni stres, celularne mehanizme oštećenja i njihov uticaj na udaljena tkiva i organe tokom ovih kardiohirurških procedura.

Opisan je značaj oksidativnog stresa kod kardiohirurških bolesnika, kao i uloga enzimskih sistema koji su involvirani u procese oštećenja mitohondrijalnog metabolizma, elektronskog disbalansa i kupiranja slobodnih kiseoničnih radikala (ROS). Istaknuta je uloga kompleksni enzimskih sistema u fiziološkim uslovima, kao i značaj pojačane ekspresije ovih enzima u patološkim stanjima i iniciranju oksidativnog stresa tokom hirurške revaskularizacije miokarda.

Ciljevi rada su precizno definisani, na osnovu jasno definisane hipoteze ove studije. Ciljevi rada se sastoje u utvrđivanju razlike između vrednosti pokazatelja oksidativnog stresa (lipidni hidroperoksidi–LOOH, produkti uznapredovale oksidacije proteina–AOPP, totalni oksidantni status–TOS, superoksid anjon radikal $2O_2^-$, prooksidativno-antioksidativni balans–PAB, malondialdehid–MDA) kod bolesnika kojima hirurška revaskularizacija miokarda urađena na kucajućem srcu (OPCAB grupa) i bolesnika kojima je revaskularizacija miokarda urađena na mašini za vantelesnu cirkulaciju (CPB grupa).

Takođe, cilj rada je bio i utvrditi razlike između vrednosti pokazatelja antioksidativne zaštite (PON1 - humana serumska paraoksonaza, sulfhidrilne grupe–SH grupe, totalni antoksidativni status (TAS), enzim serumska superoksid–dismutaza–SOD) kod bolesnika kojima hirurška revaskularizacija miokarda urađena na kucajućem srcu (OPCAB grupa) i bolesnika kojima je revaskularizacija miokarda urađena na mašini za vantelesnu cirkulaciju (CPB grupa).

Obzirom da je sagledavanje biohemijskih pokazatelja oksidativnog stresa u ovoj studiji bilo posmatrano i u svetlu kliničkih parametara i primene rezultata studije u svakodnevnoj kliničkoj praksi, jedan od glavnih ciljeva ove studije je bilo ispitivanje postojanja korelacije između vremena provedenog na respiratoru, broja dana provedenih u bolnici nakon operacije, broja jedinica primenjene transfuzije krvi, gubitaka u kilaži, broja bolničkih infekcija, kao i brzine i kvaliteta oporavka u obe grupe bolesnika.

U poglavlju **Materijal i metode** navedeno je da je studija rađena na Klinici za kardiohirurgiju VMA u Beogradu, u saradnji sa Katedrom za medicinsku biohemiju Farmaceutskog fakulteta u Beogradu. Sve procedure su bile odobrene od strane Etičkog odbora VMA (Br.1130-8) i Etičkog komiteta Medicinskog fakulteta Univerziteta u Beogradu (Br.29/II-27) i sprovedene su u skladu sa etičkim principima i smernicama usklađenim sa Helsinškom deklaracijom iz 1983.godine.

U studiji je učestvovalo 107 bolesnika podeljenih u dve grupe. Kriterijumi za uključivanje i isključivanje u studiju su jasno definisani. Detaljno su prikazani dijagnostički metodi, preoperativna priprema bolesnika, hirurške tehnike, kao i parametri intraoperativnog i postoperativnog praćenja hemodinamike bolesnika.

Jasno su definisana vremena uzimanja uzoraka venske krvi za određivanje koncentracija pokazatelja oksidativnog stresa i antioksidativne zaštite, kao i metode uzimanja i skladištenja ependorfi seruma i plazme.

Detaljno su prikazani metodi određivanja koncentracija parametara oksidativnog stresa i antioksidativne zaštite u biohemijskoj laboratoriji. Svi klinički i biohemijski parametri su unošeni u veliku bazu podataka odakle su izvedeni rezultati ove studije.

Rezultati su detaljno su opisani na 68 strana i jasno predstavljani i prikazani u 48 tabela i 33 grafikona.

Diskusija je napisana jasno i pregledno na 41 stranici, uz prikaz podataka drugih istraživanja sa uporednim pregledom dobijenih rezultata doktorske disertacije.

Zaključci sažeto prikazuju najvažnije nalaze koji su proistekli iz rezultata ove studije.

Literatura sadrži spisak od 217 citiranih referenci.

B) Kratak opis postignutih rezultata

Osnovni cilj ove studije je bio procena dinamike promene parametara oksidativno-stresnog statusa (OSS) tokom dve primenjene kardiohirurške tehnike, do 96h posle završetka operativnih procedura. Procena oksidativno-stresnog statusa (OSS) je izvršena određivanjem

koncentracije nekoliko markera oksidativnog stresa i antioksidativne zaštite: lipidnih hidroperoksida (LOOH), produkata uznapredovale oksidacije proteina (AOPP), totalnog oksidantnog statusa (TOS), nivoa superoksid anjon radikala ($O_2^{\bullet-}$), prooksidativno-antioksidativnog balansa (PAB), malondialdehida (MDA), aktivnosti antioksidativnog enzima paraoksonaze 1 (PON1), koncentracije ukupnih sulfhidrilnih grupa (tSHG), koncentracije totalnog antioksidativnog statusa (TAS) i enzima superoksid-dizmutaze (SOD).

Tako je dobijen uvid u oksidativno oštećenje lipida (merenjem koncentracije LOOH kao indikatora rane faze oksidativnog oštećenja i merenjem koncentracije MDA kao indikatora kasne faze oksidativnog oštećenja lipida) i indikatora oksidativnog oštećenja proteina (AOPP, marker kasnije faze oksidativnog oštećenja, kada već dolazi do modifikacije proteinskih molekula koje su obično bolje zaštićene od oksidativnih oštećenja u odnosu na druge biomolekule, pre svega u odnosu na lipide). Antioksidativna zaštita je kvantifikovana sa aspekta njenog enzimskog porekla (enzimi PON1 i SOD) kao i sa aspekta neenzimskog porekla – ukupne sulfhidrilne grupe (SH-grupe) i totalnog antioksidativnog statusa (TAS).

Ova studija je u smislu analitike i kvantifikacije oksidativno-stresnog statusa imala kompleksnu postavku pošto je oksidativno-stresni balans kod kardiovaskularnih bolesnika narušen u dužem periodu, pa su inicijalne koncentracije/aktivnosti merenih markera odlikavale hroničnu izloženost ovih pacijenata delovanju slobodnih radikala kao posledica aterosklerotske bolesti koja je kod ovih pacijenata bila kompleksna i dostigla tačku bez povratka. Sa druge strane, promene ove osetljive ravnoteže nakon operacije su posledica akutnog stresa izazvanog samom hirurškom procedurom. Osim toga, na stepen pojačanja oksidativnog stresa tokom kardiohirurške operacije svakako uticaja ima i primenjena operativna tehnika, kao i kvantifikacija tih promena što je i bio cilj ove studije. Jedan od ciljeva ove studije je bilo i praćenje precizne dinamike promene parametara redoks ravnoteže u dužem postoperativnom periodu, što je i postignuto izborom specifičnih vremena praćenja koja, bar prema našim saznanjima nisu pokrivena ni jednom dosadašnjom objavljenom studijom iz ovog naučnog polja. Iako je pozitivan ishod on-pump aortokoronarne bypass tehnike u smislu potpune revaskularizacije miokarda na mestima postojeće stenoze dokazan u mnogim prethodnim studijama, ova tehnika je udružena sa pokretanjem sistemskog

inflamatornog odgovora, posledične akutno-fazne reakcije, što povećava rizik od razvoja postoperativnih komplikacija. OPCAB kardiohirurška tehnika na kucajućem srcu je razvijena sa ciljem minimizacije inflamacije i indukcije sinteza proteina akutno-faznog odgovora, obzirom na to da se radi o tehnici kod koje su zaobiđeni ključni elementi CPB tehnike koji dovode do razvoja pomenutih neželjenih patofizioloških mehanizama.

Sagledavajući biohemijske pokazatelje oksidativnog stresa i antioksidativne zaštite organizma, rezultati ove studije su nedvosmisleno pokazali veći stepen oksidativnog stresa kod CPB grupe bolesnika u odnosu na OPCAB grupu bolesnika.

C) Uporedna analiza doktorske disertacije sa rezultatima iz literature

Ova studija je nedvosmisleno pokazala veći stepen oksidativnog stresa kod CPB grupe bolesnika u odnosu na OPCAB grupu bolesnika. Takođe, studija je pokazala i kraće vreme boravaka na Odeljenju intenzivne nege i kraće vreme provedeno u bolnici nakon operacije kod OPCAB grupe bolesnika, što je u vezi sa bržim oporavkom OPCAB grupe bolesnika. Svakako da na sve gore navedeno imaju uticaj i manje količina krvarenja i manja količina ordinirane transfuzije krvi kod OPCAB bolesnika, kao i kraće vreme provedeno na respiratoru.

Na ovakve rezultate ukazuju i neke ranije studije, na manjem broju bolesnika. Prema podacima iz literature veoma mali broj autora se bavio pokazateljima oksidativnog stresa kod kardiohirurških bolesnika. Prema rezultatima ovih studije može se zaključiti da je inflamatorni odgovor i oksidativni stres niži kod bolesnika operisanih na kucajućem srcu. Prema ovim studijama, verovatno je da se nekorišćenjem CPB smanjuje globalni inflamatorni odgovor uzrokovan CPB, uglavnom smanjenjem oksidativnog stresa i smanjenjem aktivacije komplemenata, leukocita i trombocita. Međutim, sve ove studije su sprovedene na strogo selektiranim bolesnicima, koji su okarakterisani uglavnom kao bolesnici sa dobrim ili malim rizikom („good risk candidates”).

Jedna od glavnih ideja studije je bila sagledavanje biohemijskih pokazatelja oksidativnog stresa u svetlu kliničkih parametara kod OPCAB hirurgije, kao i primena

rezultata ove studije u svakodnevnoj kliničkoj praksi. Sa tim u vezi, koncept studije je bio vezan za reevaluaciju indikacija kod hirurške revaskularizacije miokarda u smislu svakodnevne rutinske primene OPCAB procedura, kao metode izbora. Kada se gledaju rezultati ove studije per se, moglo bi se reći da OPCAB hirurgija može predstavljati svakodnevnu i jedinu metodu izbora prilikom hirurške revaskularizacije miokarda u najvećem broju slučajeva, tj. da je OPCAB modalitet lečenja poželjan kod svakog bolesnika. Međutim, ova studija se nije bavila prohodnošću graftova u kraćem i dužem vremenskom periodu, kao i stopom neuroloških i kardiovaskularnih komplikacija kod OPCAB hirurgije. Mnoge savremene multicentrične randomizovane studije pokazale su nešto slabiju prohodnost graftova kod OPCAB grupa bolesnika u odnosu na CPB grupe bolesnika. Jedna od tih studija ukazuje na slabiju prohodnost i arterijskih i venskih grafova, kao i neadekvatnu revaskularizaciju miokarda kod OPCAB grupe bolesnika. Još jedna velika meta studija je pokazala da ne postoji gotov nikakav signifikantan benefit od OPCAB hirurgije u pogledu mortaliteta, perioperativnog infarkta i CVI. Takođe, ova studija navodi bolje dugoročno preživljavanje kod CPB grupe bolesnika.

Korist od OPCAB hirurgije kod starijih bolesnika još uvek nije u potpunosti razjašnjena. Jedna studija randomizovanih bolesnika starosti od 75 godina i više, pokazala je da nema statistički značajnije razlike u pogledu mortaliteta, CVI, perioperativnog infarkta i reoperacija kod dve grupe bolesnika u periodu praćenja unutar jednog meseca i jedne godine.

Sa druge strane, jedna velika meta studija na velikom broju bolesnika ističe prednosti OPCAB hirurgije, bar kada je u pitanju kraći vremenski interval praćenja bolesnika. U ovoj studiji se ističu prednosti OPCAB hirurgije kada su u pitanju mortalitet, transfuzije krvi, CVI, prolongirana mehanička ventilacija, infekcije operativne rane, inotropna potpora, bubrežna insuficijencija i upotreba intraaortne balon pumpe. Isto tako, jedna velika studija je istakla prednosti OPCAB hirurgije kod visoko rizičnih bolesnika.

Sve gore navedeno navodi na zaključak da OPCAB hirurgija ima mesta u svakodnevnoj kliničkoj praksi, ali najviše kada se radi o teškim bolesnicima sa visokim prediktivnim mortalitetom, kao i kod starih bolesnika, kod kojih se ne očekuje duži životni

vek. Isto tako, OPCAB hirurgija je rezervisana kod bolesnika sa lošim kvalitetom aorte kod kojih postoji opasnost od mogućih neuroloških komplikacija. Bolesnike kod kojih se očekuje duži životni vek, kao i bolesnike sa niskim i srednjim EuroSCORE–om treba podvrgavati revaskularizaciji miokarda uz pomoć pumpe za CPB.

D) Objavljeni radovi koji čine deo doktorske disertacije

1. **Petar Vukicevic**, Aleksandar Mikic, Jelena Kotur-Stevuljevic, Natasa Bogavac-Stanojevic, Natasa Milic, Ljubinka Nikolic, Jelena Martinovic. Oxidative stress and platelet activation during on-pump and off-pump coronary artery bypass grafting in patients with double grafted vessels. Journal Biotechnology & Biotechnological Equipment.
2. **Petar Vukicevica**, Aleksandar Mikic, Jelena Kotur-Stevuljevic, Natasa Bogavac-Stanojevic, Jelena Martinovic, Janko Pejovic, Tatjana Djurasinovic, George Albert Karikas. PON1 depletion during coronary artery surgery is related to atherosclerosis plaque severity and complexity predicted by SYNTAX score value. Poslato u Atherosclerosis.

E) Zaključak (obrazloženje naučnog doprinosa)

Doktorska disertacija „**Uticaj različitih operativnih tehnika tokom hirurške revaskularizacije miokarda na oksidativni stres i antioksidativnu zaštitu**” dr Petra Vukićevića predstavlja originalni naučni doprinos u razumevanju mehanizama koji učestvuju u patogenezi oksidativnog stresa indukovano hirurškom revaskularizacijom miokarda. Ovim istraživanjem rasvetljeni su izvesni aspekti oksidativnog stresa i antioksidativne zaštite kod teških koronarnih bolesnika. Navedeni rezultati ove doktorske teze potkrepljuju pretpostavku da se oksidativni stres, kao i promene u aktivnosti enzima antioksidativne zaštite javlja kao posledica osnovne koronarne bolesti na šta ukazuju vrednosti ovih pokazatelja pre početka operacije. Sa druge strane, rezultati ove doktorske teze potkrepljuju pretpostavku da se oksidativni stres javlja u većoj meri kod bolesnika operisanih uz pomoć pumpe za CPB, što utiče na njihov klinički oporavak.

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 Petra Vukićevića i odobri njenu javnu odbranu radi sticanja akademske titule doktora medicinskih nauka.

U Beogradu, 25.05. 2016.

Članovi Komisije:

Prof. dr Tatjana Simić

Prof. dr Milan Petrović

Prof. dr Radoje Ilić

Mentor:

Doc. Dr Aleksandar Mikić
