

**NASTAVNO NAUČNOM VEĆU MEDICINSKOG FAKULTETA
UNIVERZITETA U BEOGRDU**

Na sednici Naučnog veća Medicinskog fakulteta u Beogradu, održanoj dana 27.12.2021. godine, broj 2520/2, imenovana je komisija za ocenu završene doktorske disertacije pod naslovom

„Uticaj subkliničke hipotireoze na funkciju endotela, koronarnu mikrocirkulaciju i pojavu ranih aterosklerotskih promena na karotidnim arterijama”

kandidata dr Mirjane Stojković, zaposlene u Klinici za endokrinologiju, dijabetes i bolesti metabolizma Univerzitetskog kliničkog centra Srbije. Mentor je Prof dr Miloš Žarković, komentor Prof. dr Branko Beleslin.

Komisija za ocenu završene doktorske disertacije imenovana je u sastavu:

1. Prof. dr Jasmina Ćirić, profesor Medicinskog fakulteta Univerziteta u Beogradu
2. Doc. dr Vojislav Giga, docent Medicinskog fakulteta Univerziteta u Beogradu
3. Prof. dr Zoran Hajduković, profesor Medicinskog fakulteta VMA

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 Mirjane Stojković napisana je na ukupno 84 strane i podeljena je na sledeća poglavlja: uvod, ciljevi istraživanja, material i metode, rezultati, diskusija, zaključci i literatura. U disertaciji postoji ukupno 13 tabela i 47 grafikona. Doktorska disertacija sadrži sažetak na srpskom i engleskom jeziku, biografiju kandidata, podatke o komisiji i spisak skraćenica korišćenih u tekstu.

U poglavlju **Uvod**, pregledno su navedeni podaci drugih autora koji predstavljaju osnovu za ispitivanje u okviru ove doktorske disertacije. U prvom potpoglavljju Uvoda opisana je fiziologija štitaste žlezde i hipotalamo-hipofizne osovine. U drugom potpoglavljju dat je bliži uvid u subkliničku hipotireozu uz akcenat na diferencijalnu dijagnozu povišenih vrednosti TSH i moguće greške pri postavljanju dijagnoze subkliničke hipotireoze. U trećem

potpoglavlju je prikazana veza između subkliničke hipotireoze i kardiovaskularnog sistema. Ovo potpoglavlje je podeljeno na nekoliko celina u kojima je najpre opisuje dejstvo tiroidnih hormona na kardiovaskularni sistem i na kardiometaboličke faktore rizika kroz opis dejstva tiroidnih hormona na metabolizam lipida, glukoznu homeostazu i insulinsku rezistenciju, uticaj tiroidnih hormona na markere hronične inflamacije uz akcenat na CRP, a zatim se daje detaljniji osvrt na vezu između subkliničke hipotireoze i ranih znakova ateroskleroze uz objašnjenje patofizioloških mehanizama endotelne disfunkcije. Na kraju ovog poglavlja dato je objašnjenje i značaj merenja protokom posredovane vazodilatacije (PPD), debljine intima-medija kompleksa karotidnih arterija i određivanje koronarne rezerve protoka u proceni kvaliteta krvnih sudova i detekciji ranih znakova ateroskleroze.

Ciljevi rada doktorske disertacije su precizno definisani. Sastoje se od ispitivanja povezanosti tiroidnog hormonskog statusa i njegove promene u pravcu subkliničke hipotireoze sa promenama u protokom posredovanoj (vazo)dilataciji (PPD), sa promenama u debljini intima-medija kompleksa (IMK) i sa promenama u koronarnoj rezervi protoka (KRP).

Saglasno Ciljevima rada, primenjeni su istraživački pristupi detaljno objašnjeni u poglavlju **Metodologija**. U ovom poglavlju je navedeno da se radi o studiji preseka koja je sprovedena u Klinici za endokrinologiju, dijabetes i bolesti metabolizma i u Klinici za kardiologiju UKCS u periodu 2014-2020. godine. Istraživanje je odobreno od strane Etičkog komiteta Univerzitetskog kliničkog centra Srbije i Etičkog komiteta Medicinskog fakulteta u Beogradu br 29/XII-27, 01.12.2014. U studiju je uključeno ukupno 133 ispitanika (78 ispitanika sa subkliničkom hipotireozom i 55 ispitanika sa urednim tiroidnim hormonskim statusom), koji su u navedenom periodu bili ambulantno pregledani u Klinici za endokrinologiju, dijabetes i bolesti metabolizma UKCS. Detaljno su opisani kriterijumi za uključenje u studiju, kao i kriterijumi za isključenje iz studije. Svi ispitanici su popunili Anketu na osnovu koje je zaključeno da li ispunjavaju kriterijume za ulazak u studiju. Svim pacijentima su izvršena antropometrijska merenja (telesna visina, telesna masa, obim struka, obim kukova, i arterijski krvni pritisak) i laboratorijske analize (fT4, fT3, TSH, TPOAt, TgAt, glikemija, HbA1c, ukupni holesterol, HDL, LDL, trigliceidi i CRP). Ultrazvučna ispitivanja su izvršena na ultrazvučnim aparatima visoke rezolucije. Određivanje protokom posredovane vazodilatacije je vršeno na brahijalnoj arteriji dominantne ruke na ultrazvučnom aparatu (Siemens Medical Solutions, Mountain View, Kalifornija, SAD), u B-modu uz pomoć linearne sonde od 10 mHz, a PPD (%) je izračunata na osnovu date formule. Merenje debljine IMK je vršeno istim tipom aparata, a debljina IMK je predstavljena kao srednja vrednost tri uzastopna merenja na

obe karotidne arterije. Koronarna rezerva protoka je određivana korišćenjem Acuson Sequoia C 256 (Siemens Medical Solutions, Mountain View, Kalifornija, SAD) sa linearnom sondom od 4-MHz. Merene su maksimalne brzina protoka u srednjem/distalnom delu leve prednje descendente (LAD) koronarne arterije u miru i nakon hiperemije, a rezultati su prikazani kao srednje vrednosti maksimalne brzine koronarnog protoka za mir i hiperemiju. KRP je izračunata na osnovu date formule. Od metoda za testiranje statističkih hipoteza korišćeni su: t-test, Mann-Whitney test, hi-kvadrat test, Fisherov test tačne verovatnoće, ANOVA sa Tukey post-hoc testom i Kruskal-Wallis test. Od metoda za analizu povezanosti upotrebljen je Pearsonov koeficijent linearne korelacije. Za modelovanje odnosa kardiovaskularnih ishoda (PPD, IMK i KRP) i potencijalnih prediktora korišćena je linearna regresija. Statističke hipoteze su testirane na nivou statističke značajnosti (alfa nivo) od 0,05. Svi podaci su obrađeni u IBM SPSS Statistics 22 (SPSS Inc., Chicago, IL, USA) softverskom paketu.

U poglavlju **rezultati** detaljno su opisani i jasno tabelarno i grafički prikazani svi dobijeni rezultati.

Diskusija je napisana jasno i pregledno, dobijeni rezultati su sistematski osvetljeni sa aspekta relevantnih saznanja iz literature, učinjeno je poređenje rezultata sa rezultatima do sada objavljenih studija i dati potencijalni razlozi za dobijene razlike u rezultatima.

Zaključci proistekli iz rezultata rada su sažeto prikazani.

U poglavlju **Literatura** navedeno je 229 referenci koje su u vezi sa temom doktorske disertacije i koje su korišćene za njenu izradu.

B) Provera originalnosti doktorske disertacije

Na osnovu Pravilnika o postupku provere originalnosti doktorskih disertacija koje se brane na Univerzitetu u Beogradu i nalaza u izveštaju iz programa iThenticate kojim je izvršena provera originalnosti doktorske disertacije „Uticaj subkliničke hipotireoze na funkciju endotela, koronarnu mikrocirkulaciju i pojavu ranih aterosklerotskih promena na karotidnim arterijama”, autora Mirjane Stojković utvrđeno je podudaranje teksta 13%. Ovaj stepen podudarnosti posledica je opisa statističkih analiza i rezultata, opštih mesta i podataka, što je u skladu sa članom 9.

C) Kratak opis postignutih rezultata

Ispitivanje je pokazalo da se osobe sa subkliničkom hipotireozom ne razlikuju značajno od eutiroidnih osoba po antropometrijskim karakteristikama, učestalosti hipertenzije, vrednostima sistolnog i dijastolnog krvnog pritiska i navikama u pušenju. Takođe se ne razlikuju ni se vrednostima metaboličkih parametara (glikemija, bazni insulin, HOMA IR, holesterol, HDL, LDL, trigliceridi, CRP). Razlika u datim parametrima nije dobijena čak ni nakon podele grupe sa subkliničkom hipotireozom na blaži i teži oblik prema visini TSH.

Proučavanje povezanosti tiroidnog hormonskog statusa sa markerima rane ateroskleroze sprovedeno je merenjem i izračunavanjem protokom posredovane dilatacije kao markera endotelne funkcije, debljine intima-medija kompleksa i koronarne rezerve protoka. Protokom posredovana dilatacija ispitivana je kod 47 ispitanika (33 ispitanika iz SHT grupe i 14 ispitanika iz EUT grupe). Debljina intima-medija kompleksa je merena kod 77 ispitanika (kod 41 ispitanika iz SHT grupe i 36 ispitanika iz EUT grupe), a koronarna rezerva protoka kod 50 ispitanika (32 iz SHT grupe i 18 iz EUT grupe). Osobe sa subkliničkom hipotireozom nisu se razlikovale ni u markerima rane ateroskleroze od eutiroidnih osoba. I u jednoj i u drugoj grupi dobijene su vrednosti protokom posredovane dilatacije, debljine intima-medija kompleksa i koronarne rezerve protoka u okvirima opsega zdrave populacije. Testovi korelacije nisu pokazali povezanost ni jednog parametra tiroidnog hormonskog statusa sa protokom posredovanom dilatacijom, debljinom intima-medija kompleksa i koronarnom rezervom protoka.

Međutim, primenom univarijantne linearne regresije unutar samih grupa dobijeni su različiti obrasci ponašanja osoba sa subkliničkom hipotireozom i eutiroidnih osoba. Nađeno je da je protokom posredovana dilatacija u inverznom odnosu sa odnosom obima struka i kuka samo u eutiroidnih osoba dok ovakva povezanost nije postojala u osoba sa subkliničkom hipotireozom. Razlike među grupama su još izraženije u povezanosti debljine intima-medija kompleksa sa pojedinim parametrima unutar grupa. Naime, kod osoba sa subkliničkom hipotireozom postoji značajna povezanost debljine intima-medija kompleksa sa starošću, vrednostima glikemije, HOMA IR i fT4, dok u eutiroidnih osoba ova povezanost nije nađena. U multivarijantnom modelu statistički značajni prediktori viših vrednosti debljine intima-medija kompleksa u osoba sa subkliničkom hipotireozom su više vrednosti glikemije i niže vrednosti fT4.

Takođe, u osoba sa subkliničkom hipotireozom nađena je značajna povezanost starosti, glikemije, HbA1c, insulina, HOMA IR, holesterola, LDL i triglicerida sa koronarnom rezervom protoka, dok je u eutiroidnih osoba ova povezanost koronarne rezerve protoka nađena samo sa starošću i holesterolom.

D) Uporedna analiza doktorske disertacije sa rezultatima iz literature

Ispitivanje povezanosti subkliničke hipotireoze i kardiovaskularnih faktora rizika je veoma aktuelna tema u poslednje dve decenije i veliki je broj studija koje su se njom bavile. Rezultati velikih prospektivnih kohortnih studija o povezanosti subkliničke hipotireoze i ishoda kardiovaskularnih bolesti nisu jedinstveni u čemu i leži aktuelnost teme. Jedan broj studija je pokazao da je rizik od kardiovaskularnih bolesti povećan kod pacijenata sa subkliničkom hipotireozom (Rodondi i sar, *Jama* 2010, Tseng i sar, *J Am Coll Cardiol*. 2012, Gencer i sar. *Circulation*. 2012, Baumgartner i sar, *Circulation*. 2017). Sa druge strane, postoje studije koje nisu pokazale povezanost između subkliničke hipotireoze i kardiovaskularnih događaja i mortaliteta (Cappola i sar. *Jama*. 2006; Boekholdt i sar *Clin Endocrinol (Oxf)*. 2010).

Telesni sastav, telesna masa i tiroidni hormonski status su blisko povezani i u klinički manifestnoj hipotireozu dolazi do dobijanja u telesnoj masi. Studije koje su se bavile telesnom masom u subkliničkoj hipotireozu ne nalaze njen porast u ovih pacijenata u odnosu na eutiroidne osobe (Garin i sar, *J Clin Endocrinol Metab*. 2014, Pan i sar, *Endocr Pract*. 2019) što je u skladu sa rezultatima ove disertacije.

Veliki je broj studija koje su se bavile metaboličkim parametrima u subkliničkoj hipotireozu i one takođe daju oprečne rezultate. Dok neke studije i meta-analize ukazuju na više vrednosti holesterola i LDL (Rodondi i sar, *Arch Intern Med*. 2005, Walsh i sar, *Clin Endocrinol (Oxf)*. 2005, Liu i sar, *Med Sci Monit* 2014), postojanje IR (Maratou, *EJE* 2010) i više vrednosti CRP-a (Tuzcu i sar, *Endocr J*. 2005) kod osoba sa subkliničkom hipotireozom u odnosu na eutiroidne osobe, postoje i studije koje to ne nalaze (Caraccio i sar, *J Clin Endocrinol Metab*. 2002, Bell i sar, *Clin Endocrinol (Oxf)*. 2007, Brenta i sar, *Thyroid* 2007, Hueston i sar, *Clin Endocrinol (Oxf)*. 2005).

Endotelna disfunkcija je prepoznata kao rani i modulirajući proces u patofiziologiji aterosklerotske kardiovaskularne bolesti koja se najčešće kvantifikuje protokom posredovanom dilatacijom i predstavlja marker povećanog kardiovaskularnog rizika. Cabral i saradnici u svojoj studiji koja je uključila 21 osobu sa SHT I 21 osobu sa urednim tiroidnim

hormonskim statusom, takođe nisu našli značajnu razliku u PPD (16.1(8.8%) prema 20.6 (11.2%)) između osoba sa subkliničkom hipotireozom i eutiroidnih osoba (Cabral i sar, Braz J Med Biol Res. 2009). Studija Cikima i saradnika koja je uključila 25 osoba sa subkliničkom hipotireozom i 23 eutiroidne osobe, našla je značajno nižu PPD u osoba sa subkliničkom hipotireozom u odnosu na eutiroidne osobe (Cakim i sar, Thyroid 2004). Slični rezultati su dobijeni u još dve studije (Kilic i sar, Indian J Endocrinol Metab. 2013, Niknam i sar, Adv Biomed Res 2016). U meta-analizi Yao i saradnika koja je uključila 27 studija koje su se bavile neinvazivnim markerima kardiovaskularnog rizika, u 7 studija sa ukupno 230 osoba sa SHT i 204 eutiroidne osobe pokazano je da kod osoba sa subkliničkom hipotireozom postoji endotelna disfunkcija koja je između ostalih izražena i kroz značajno nižu PPD u poređenju sa eutiroidnim osobama, ali je ograničenije studije bila velika heterogenost među studijama (Yao i sar, Sci Rep 2018). U ovoj doktorskoj disertaciji ispitivanje PPD je vršeno na broju ispitanika koji je komparabilan sa prethodnim studijama i u njoj nije nađena razlika u PPD između osoba sa subkliničkom hipotireozom i eutiroidnih osoba.

Iako je više studija koje ne pokazuju razliku u debljini IMK između osoba sa subkliničkom hipotireozom i eutiroidnih osoba (Kilic i sar, Indian J Endocrinol Metab. 2013, Niknam i sar, Adv Biomed Res 2016, Asik i sar, Clin Endocrinol (Oxf). 2013) ima i onih koje je nalaze. Dve velike meta-analize koje su se bavile neinvazivnim markerima kardiovaskularnog rizika u osoba sa subkliničkom hipotireozom, našle su značajno više vrednosti debljine IMK kod ovih osoba u odnosu na eutiroidne osobe. U meta-analizi koja je uključila osam opservacionih studija sa ukupno 3602 pacijenta, našli su značajno veću debljinu IMK kod osoba sa SHT u odnosu na eutiroidnu grupu. U analizi po podgrupama, vrednosti TSH >10 mIU/L su bile udružene sa većom debljinom IMK (Gao i sar, Atherosclerosis 2013). Yao i saradnici u svojoj meta-analizi, pored razlike u PPD, u analizi 13 studija koje su se bavile debljinom IMK, sa 494 pacijenta sa SHT i 390 eutiroidnih osoba, našli takođe i značajno višu vrednost debljine IMK u SHT grupi u odnosu na eutiroidne osobe (Yao i sar, Sci Rep 2018). Sa druge strane, populaciona studija sprovedena na Sardiniji koja je uključila 5815 osoba predstavlja verovatno jednu od najvećih studija koje su se bavile debljinom IMK kod osoba sa subkliničkom tireozom. Ona nije našla statistički značajnu razliku u debljini IMK među grupama uz zaključak da blagi poremećaji tiroidne funkcije ne dovode do promena u debljini IMK, a da najznačajniji uticaj na debljinu IMK imaju godine (Delitala i sar Nutr Metab Cardiovasc Dis. 2015).

Merenje KRP je koristan i jednostavan način procene koronarne mikrocirkulacije u različitim kliničkim stanjima koja mogu da dovedu do njene disfunkcije. Granična vrednosti za KRP < 2 je opšte prihvaćena jer je u različitim studijama pokazano da KRP < 2 otkriva značajnu stenozu epikardne koronarne arterije i predviđa ishemiju miokarda sa senzitivnošću i specifičnošću većom od 90% (Matsumura i sar, Am J Cardiol. 2003).

U literaturi se mogu naći samo četiri studije su prethodno procenjivale KRP kod pacijenata sa SHT i sve one su našle značajnu razliku u KRP između osoba sa SHT i eutiroidnih osoba. U jednoj studiji je korišćen dipiridamol (Baycan i sar, Clin Cardiol. 2007,) u drugoj adenozin (Ofiaz i sar, Int J Cardiol. 2007) kao stresor, a i adenozin i dipiridamol izazivaju hiperemični stimulus koji opušta ćelije glatkih mišića krvnih sudova na način koji je uglavnom nezavisan od endotela. U trećoj studiji, KRP je procenjivana pre i posle uvođenja supstitucione terapije levotiroksinom (Ofiaz i sar, Endocrine 2007). Četvrta studija procenjivala je KRP kod SHT ispitanika nakon endotel-zavisne vazodilatacije, kotisteći test sa hladnom vodom (cold pressor test) da bi se indukovala vazodilatacija zavisna od endotela (Biondi i sar, EJE 2009). U ovoj doktorskoj disertaciji korišćen je adenozin kao stressor i dobijeni rezultati ne pokazuju razliku u KRP između osoba sa subkliničkom hipotireozom i eutiroidnih osoba a u diskusiji je detaljno izloženo objašnjenje za ovakav rezultat i mogući razlozi za razliku u rezultatima.

E) Objavljeni radovi koji čine deo doktorske disertacije

Stojkovic M, Nedeljkovic-Beleslin B, Tesic M, M, Bukumiric Z, Ciric J, Stojanovic M, Miletic M, Djordjevic-Dikic A, Giga V, Beleslin B, Zarkovic M. Specific impact of cardiovascular risk factors on coronary microcirculation in patients with subclinical hypothyroidism. J Med Biochem 2022; 41: 1–7. DOI 10.5937/jomb0-34545

F) Zaključak (obrazloženje naučnog doprinosa)

Doktorska disertacija, „Uticaj subkliničke hipotireoze na funkciju endotela, koronarnu mikrocirkulaciju i pojavu ranih aterosklerotskih promena na karotidnim arterijama” kandidata dr Mirjane Stojković predstavlja aktuelnu i značajnu temu koja je prvi put obrađena u našoj zemlji i predstavlja originalni naučni doprinos u istraživanjima koja se odnose na uticaj subkliničke hipotireoze na kardiovaskularni sistem i kardiometaboličke faktore rizika. Ovo je prva studija koja je pokazala razliku u delovanju kardiovaskularnih faktora rizika na osobe sa subkliničkom hipotireozom u odnosu na eutiroidne osobe uz zaključak da osobe sa

subkliničkom hipotireozom imaju veću senzitivnost na klasične markere kardiovaskularnog rizika u odnosu na eutiroidne osobe i verovatno niži prag za razvoj hronične inflamacije, koja igra važnu ulogu u razvoju aterogeneze i dovodi do povećanog rizika za razvoj kardiovaskularnih bolesti. Ponuđeno objašnjenje za ovu razliku je promena u „set point“-u hipotalamo-hipofizno-tiroidne osovine kod osoba sa subkliničkom hipotireozom, čime se potencijalno menja osetljivost mikrovaskulature kod ovih osoba na poznate faktore rizika u pravcu koji je proaterogen i predisponira aterotrombotičkim događajima i čini ih podložnijim za hroničnu inflamaciju niskog stepena.

Dosadašnji stručni i naučni rad kandidata dr. Mirjane Stojković, ali i mentora prof.dr Miloša Žarkovića i komentora prof.dr Branka Beleslina, kao i aktuelnost teme, predstavljaju realnu osnovu da je istraživanje izvršeno kompetentno, prema svim principima naučnog istraživanja. Ciljevi su precizno definisani, naučni pristup je originalan i pažljivo izabran, a metodologija rada je savremena. Rezultati su pregledno i sistematično prikazani i diskutovani, a iz njih su izvedeni odgovarajući zaključci.

Stoga, na osnovu celokupne analize priloženog materijala, Komisija jednoglasno zaključuje da su, pored zakonskih, ispunjeni i svi ostali uslovi i na osnovu toga predlaže Naučnom veću Medicinskog fakulteta da kandidatu dr.Mirjani Stojković odobri odbranu doktorske disertacije sa predloženom temom.

U Beogradu, 27.01.2022.

Članovi Komisije:

Prof. dr Jasmina Ćirić

Doc. dr Vojislav Giga

Mentor:

Prof. dr Miloš Žarković

Komentor:

Prof. dr Branko Beleslin

Prof. dr Zoran Hajduković
