

NAU NOM VE U MEDICINSKOG FAKULTETA
UNIVERZITETA U BEOGRADU

Na sednici Nau nog ve a Medicinskog fakulteta u Beogradu, održanoj dana 7.03.2016. godine, broj 5940/3 imenovana je komisija za ocenu završene doktorske disertacije pod naslovom:

„Analiza fenotipova sindroma policisti nih jajnika i njihov uticaj na metaboli ke promene”

kandidata mr sci med dr Ivane Boži Anti , zaposlene u Klinici za endokrinologiju, dijabetes i bolesti metabolizma, Klini kog centra Srbije, kao lekar specijalista interne medicine. Mentor je Prof. dr uro Macut.

Komisija za ocenu završene doktorske disertacije imenovana je u sastavu:

1. Prof. dr Miloš Žarkovi , redovni profesor Medicinskiog fakulteta, Univerziteta u Beogradu, Klinika za endokrinologiju, dijabetes i bolesti metabolizma, Klini ki centar Srbije
2. Prof. dr Milan Petakov, vanredni profesor Medicinskiog fakulteta, Univerziteta u Beogradu, Klinika za endokrinologiju, dijabetes i bolesti metabolizma, Klini ki centar Srbije
3. Nau ni saradnik dr Danijela Vojnovi Milutinovi , Institut za biološka istraživanja „Siniša Stankovi ”

Na osnovu analize priložene doktorske disertacije, komisija za ocenu završene doktorske disertacije jednoglasno podnosi Nau nom ve u Medicinskog fakulteta slede i

IZVEŠTAJ

A) Prikaz sadržaja doktorske disertacije

Doktorska disertacija mr sci med dr Ivane Boži Anti napisana je na 236 strane i podeljena je na slede a poglavlja: uvod, ciljevi rada, metodologija, rezultati, diskusija, zaključci i literatura. U disertaciji se nalazi ukupno 8 grafikona i 49 tabela. Doktorska disertacija sadrži sažetak na srpskom i engleskom jeziku, biografiju kandidata, podatke o komisiji i spisak skraćena korišćenih u tekstu.

U **Uvodu** je definisan sindrom policističnih jajnika (*Engl. Polycystic ovary syndrome, PCOS*) kao najčešća endokrinopatija kod žena u reproduktivnom životnom dobu i istovremeno kompleksan poremećaj multifaktorijalne etiopatogeneze. Prikazane su sve raspoložive definicije na osnovu kojih se PCOS može dijagnostikovati i istaknuta je razlika među njima, a pre svega fenotipska varijabilnost PCOS što je i predmet samog istraživanja. Svaka klinička karakteristika PCOS je posebno opisana sa prikazivanjem rezultata najnovijih istraživanja u stručnoj literaturi. Istaknut je način dijagnostikovanja svake kliničke karakteristike PCOS kao i dileme koje trenutno postoje u vezi sa tim u stručnoj javnosti, naročito pri dijagnostikovanju biohemijskog hipernadrogenizma (hiperandrogenemije). Takođe su prikazani svi mogući patofiziološki mehanizmi za koje se smatra da se nalaze u osnovi ovog kompleksnog oboljenja. Poseban akcenat je stavljen na kardiometaboličke faktore rizika i posledice kojima su izložene žene koje imaju PCOS. Svaki od ovih rizika (gojaznost, dislipidemija, insulinska rezistencija i diabetes mellitus, hipertenzija i generalno metabolički sindrom-MetS) je posebno i detaljno opisan u vezi sa PCOS i prikazani su podaci iz najnovijih radova stručne literature. I konačno prikazane su opšte karakteristike fenotipova PCOS i rezultati do sada sprovedenih ispitivanja iz malog broja studija u dostupnoj literaturi. Poslednji deo uvoda se odnosi na sumiranje razloga zbog kojih se u literaturi takođe nalaze heterogeni rezultati prilikom ispitivanja različitih aspekata PCOS.

Ciljevi rada su precizno definisani. Sastoje se u ispitivanju hormonskih i metaboličkih karakteristika različitih fenotipova PCOS. Ciljevi doktorske teze bili su da se 1) odredi prevalencija četiri fenotipa PCOS u populaciji ispitanica iz ovog istraživanja 2) odrede

hormonske i 3) metaboli ke karakteristike svih fenotipova PCOS i ispita da li se oni me usobno razlikuju 4) odredi prevalencija metaboli kog sindroma u celoj PCOS populaciji kao i svakom fenotipu pojedina no koriš enjem tri definicije za dijagnostikovanje MetS.

U poglavlju **Metodologija** navedeno je da je ispitivanje u injeno u Klinici za endokrinologiju, dijabetes i bolesti metabolizma, Klini kog centra Srbije. Detaljno su definisane sve klini ke karakteristike koje ine PCOS i na osnovu kojih je postavljana dijagnoza PCOS, kao i svi poreme aji koji su razmatrani u ovom istraživanju kao što su disglukemija i diabetes melitus, insulinska rezistencija i metaboli ki sindrom definisan pomo u tri definicije (NCEP-ATP III, IDF i Joint definicija). Prikazan je na in podele ispitanica na PCOS fenotipove. Definisana je i kontrola grupa zdravih ispitanica i prikazani su kriterijumi za isklju ivanje ispitanika iz studije. Prikazan je na in na koji su obavljane sve antropometrijske i biohemijske analize, endokrinološki testovi koji su radjeni (oralni test optere enja glukozom i euglikemijski hiperinsulinemijski klamp). Detaljno su prikazane sve statisti ke analize koje su primenjene pri analizi podataka dobijenih u ovom istraživanju.

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.

Zaklju ci sažeto prikazuju najvažnije nalaze koji su proistekli iz rezultata rada. Koriš ena **literatura** sadrži spisak od 445 referenci.

B) Kratak opis postignutih rezultata

Ovo istraživanje je pokazalo da je PCOS fenotip A koji podrazumeva postojanje svih karakteristika PCOS (hiperandrogenizam, anovulacija, morfološki policisti ni jajnici), najzastupljeniji (57%) od svih fenotipova u ispitivanoj populaciji žena. Drugi po u estalosti sa prevalencom 22% je fenotip C (ovulatorni fenotip) dok tre e mesto po zastupljenosti dele fenotip B (anovulacija i hiperandrogenizam) sa prevalencom 11% i fenotip D (normoandrogeni fenotip) sa prevalencom 10%.

Pokazano je da se PCOS fenotipovi međusobno značajno razlikuju prema hormonskim karakteristikama. Pri tome treba ista i da se prilikom statističke obrade podataka vodilo računa o uparivanju pacijenata prema godinama starosti i indeksu telesne mase (*Engl. Body mass index*, BMI) i da se dodatno ističe važnost dobijenih rezultata. Tako je pokazano da je inverzan odnos gonadotropina, koji se često javlja u PCOS uopšte, u stvari dominantna karakteristika fenotipa A. Stepen hiperandrogenemije je također različit kod različitih fenotipova, pa su povišeni testosteron i androstenedion karakteristični za fenotipove A, B i C, a visok dihidroepiandrosteron-sulfat (DHEAS) samo fenotipova A i C. Nizak seks-hormon-vezujući globulin (*Engl. Sex-hormone-binding globulin*, SHBG) je karakterističan za sve PCOS fenotipove što predstavlja jedan od značajnijih rezultata imajući u vidu vezu SHBG-a i insulinske rezistencije. Interesantan rezultat je i nižeg nivoa progesterona u lutealnoj fazi menstrualnog ciklusa kod žena sa PCOS koje su imale redovne menstrualne cikluse u odnosu na zdrave žene sliče njihov BMI i godina starosti što je karakteristika svih fenotipova uključujući i žene sa ovulatornim fenotipom C.

Pokazano je da žene sa fenotipovima A, B i C karakterišće veći indeks telesne mase i apsolutni sadržaj trbušnog masnog tkiva u odnosu na zdrave žene i žene iz fenotipa D sličnih godina starosti. Značajan rezultat je da i žene sa fenotipom D također imaju značajno veći i relativni sadržaj trbušnog masnog tkiva u odnosu na zdrave žene sličnih godina starosti. Ni jedna žena sa PCOS nije imala razvijen dijabetes melitus tip 2, a prevalenca oštećene glikemije našte i oštećene tolerancije glukoze je bila mala i ista u svim fenotipovima. Dobijeno je da je insulinska rezistencija dominantna karakteristika fenotipova A i B, dok žene sa fenotipovima C i D imaju sličan stepen insulinske rezistencije. Pri tome, je pokazano da je insulinska rezistencija u fenotipu D sličnog nivoa kao i u fenotipovima A i B, dok je rezistencija u fenotipu C značajno niža od fenotipova A i B. U odnosu na zdrave žene sličnog BMI i godina starosti sve PCOS fenotipove karakterišće hipertrigliceridemija, a hiperandrogene fenotipove A, B i C dodatno karakterišće hiperholesterolemija, visok non-HDL i odnos TG/HDL.

Pokazano je da je prevalenca metaboličkog sindroma je značajno veća u PCOS grupi u celini u odnosu na kontrolnu grupu, zdravih žena sličnih prema godinama starosti i to prema

sve tri koriš ene definicije MetS. Me utim, pokazano je da se prevalenca MetS u razli itim fenotipovima razlikuje u zavisnosti od vrste definicije koja se koristi. Tako fenotipovi A i B imaju ve u prevalencu MetS u odnosu na zdrave žene nezavisno od vrste kriterijuma koji se koriste; dok to važi sa fenotip C samo pri koriš enju NCEP-ATP III ili Joint definicije a obaveznost kriterijuma pove anog obima struka, smanjuje prevalencu MetS u fenotipu C i izjedna ava je sa zdravim ženama. Fenotip D se prema prevalenci MetS ne razlikuje od zdravih žena sli nih godina starosti ali ukoliko se radi o ženama sli nog BMI, tada pri koriš enju NCEP-ATP III definicije postoji ve a prevalenca MetS u ovom fenotipu u odnosu na zdrave žene. U situaciji kada su fenotipovi sli ni prema godinama starosti, u odnosu na fenotip D, fenotipovi A i B imaju ve u prevalencu MetS prema svim definicijama dok fenotip C ima ve u prevalencu samo pri koriš enju IDF i Joint definicija, ali ne i prema NCEP-ATP III definiciji. Pokazano je da je gojaznost najvažnija determinanta postojanja MetS u fenotipovima PCOS, obzirom da po izjedna avanju ispitanica prema BMI, prevalenca MetS je u svim fenotipovima ista. Analizom razli itih prediktora MetS zaklju eno je da je lipidni akumulacioni produkt (LAP) parametar sa najboljom diskriminacionom vrednoš u za postavljanje dijagnoze MetS i u PCOS grupi generalno i u grupi zdravih žena, kao i u svim pojedina nim fenotipovima. Dodatno je pokazano da insulinska rezistencija merena homeostatskim modelom (HOMA-IR) predstavlja važan determinišu i faktor MetS, koji u ve ini fenotipova ima bolju diskriminacionu vrednost od drugih, klasi nih kriterijuma za postavljanje dijagnoze MetS.

C) Uporedna analiza doktorske disertacije sa rezultatima iz literature

Zastupljenost prevalence razli itih fenotipova PCOS u populaciji žena koja je ispitivana u ovoj studiji je sli na kao i u drugim do sada objavljenim istraživanjima (Welt i sar. 2006, Shroff i sar. 2007, Guastella i sar. 2010, Panidis i sar. 2012, Baldani i sar. 2013, Daan i sar. 2014). Smatra se da oko 75% žena sa PCOS ima neki stepen disregulacije sekrecije gonadotropina (Azziz i sar. 2009) i da je odnos LH/FSH kod ovih žena esto pove an, a rezultati ove studije su pokazali da je to pre svega karakteristika fenotipa A i da se ne javlja podjednako esto u svim fenotipovima. U ovom istraživanju prevalenca hiperandrogenemije (79%) kod žena sa PCOS je komparabilna sa rezultatima nekih studija

(Moggetti i sar. 2013) odnosno je ve a naspram nekih drugih studija (Yildiz i sar.2012). Literaturni podaci o uticaju specifi n h androgena na klini ke karakteristike PCOS a naro ito na pojedina ne fenotipove su ograni eni. U nekim studijama su fenotipovi A i B imali zna ajno ve u prevalencu i hirzutizma i hiperandrogenemije u odnosu na fenotip C (Welt i sar.2006, Guastella i sar. 2010) dok se me usobno fenotipovi A i B obi no ne razlikuju prema stepenu hirzutizma (Dewailly i sar.2006, Guastella i sar. 2010). U ovom istraživanju, pokazano je da su koncentracije testosterona i androstenediona najve e i postepeno opadaju u hiperandrogenim fenotipovima A, B i C tim istim redosledom, sa zna ajnom razlikom u nivou oba hormona izme u fenotipa A i C, dok fenotip D ima niže koncentracije oba hormona kao što je i o ekivano i zna ajno se razlikuje od hiperandrogenih fenotipova. Nalaz najve e koncentracije DHEAS u fenotipu C a najniže u fenotipu D, je dobijen i u drugim studijama (Welt i sar.2006, Yilmaz i sar. 2011, Ates i sar. 2013) dok su suprotne rezultate ovima dobili Kauffman i sar 2008. i Guastella i sar. 2010. Jedan od najbitnijih rezultata po pitanju hiperandrogenizma u ovoj studiji su zna ajno niže koncentracije SHBG i više vrednosti indeksa slobodnih androgena (*Engl. Free androgen index, FAI*) u fenotipu D u odnosu na zdrave žene izjedna ene prema godinama starosti i BMI. Ovaj rezultat je u skladu sa rezultatom nekoliko drugih studija (Barber i sar. 2007, Kauffman i sar 2008.). Imaju i u vidu da je ovim pokazano da fenotip D ima funkcionalni hiperandrogenizam, zaklju eno je da je ovo jedan od faktora koji opravdava postojanje fenotipa D kao dela PCOS spektra.

Iako je skorašnja meta-analiza (Moran i sar. 2010) potvrdila da je prevalenca disglukemije ve a kod PCOS u odnosu na zdravu populaciju žena, pojedina ne studije pokazuju heterogene rezultate. Ovakvo odsustvo razlike u prevalenci ošte ene tolerancije na glukozu i diabetes mellitusa tip 2 izme u PCOS i kontrolne grupe zdravih ispitanica u ovoj studiji je komparabilno sa rezultatima nekih drugih studija (Welt i sar 2006, Luque-Ramirez i sar. 2010). Ve ina prethodno ra enih studija pokazuje da pri pore enju sa zdravim ženama i ženama sa fenotipovima C i D, klasi ni PCOS fenotipovi (fenotipovi A i B) imaju zna ajno najve i stepen insulinske rezistencije (Carima i sar 2005, Barber i sar 2007, Wang i sar 2010, Yilmaz i sar 2011). Me utim za fenotipove C i D postoje heterogeni podaci, pa neke studije pokazuju da žene sa fenotipovima C i D imaju normalnu insulinsku senzitivnost kao i zdrave

žene dok druge pokazuju da imaju slabu insulinsku rezistenciju (Carmina i sar 2005, Barber i sar 2007, Guastella i sar 2010, Yilmaz i sar 2011). U studijama je est nalaz izostanka zna ajnih razlika u vrednostima lipida izme u fenotipova kao i kontrola uparenih prema godinama starosti i BMI ili nakon prilago avanja rezultata prema godinama i BMI (Shroff i sar 2007, Che i sar 2008, Ates i sar 2013). Za razliku od toga, u ovoj studiji, pri pore enju fenotipova sa zdravom populacijom su zaostale zna ajne razlike u nivou ukupnog holesterola i non-HDL koji su bili zna ajno ve i u sva tri hiperandrogena fenotipa, a dobijen je i interesantan rezultat zna ajno ve eg nivoa TG kod svih fenotipova (uklju uju i i fenotip D) u odnosu na zdrave žene.

Pokazano je da se prevalenca MetS kod žena sa PCOS razlikuje u zavisnosti od kriterijuma koji se koriste (Panidis i sar 2013). U ovoj studiji je pokazano da populacija ispitanica sa PCOS ima zna ajno ve u prevalencu MetS nezavisno od godina starosti i BMI u odnosu na zdravu populaciju žena, bez obzira na vrstu koriš enih definicija. Studije uglavnom pokazuju da se prevalenca MetS u fenotipu D ne razlikuje od prevalence MetS kod kontrolne grupe, dok fenotipovi A, B i C imaju 6-8 puta ve u verovatno u da imaju MetS u odnosu na kontrolne žene sli ne životne dobi i BMI (Barber i sar.2007, Shroff i sar 2008). Rezultati ovog istraživanja pokazuju da žene sa fenotipom A i B imaju zna ajno ve u prevalencu MetS prema svim definicijama, u odnosu na zdrave žene istih godina starosti. Fenotip C ispoljava ve u prevalencu MetS prema NCEP-ATPIII i Joint kriterijumima u odnosu na zdrave žene istih godina starosti ali ne i prema IDF kriterijumima. Inicijalno, fenotip D u ovoj studiji ima istu prevalencu MetS u odnosu na zdrave žene prema svim MetS definicijama. Me utim, pri isklju ivanju BMI kao faktora koji doprinosi razlikama izme u fenotipova i zdravih žena, jedino je prema NCEP-ATP III definiciji pokazano da fenotip D ima ve u prevalencu MetS u odnosu na zdrave.

U ovj studiji je pokazano da su kod žena sa PCOS, bez obzira na to da li se radi ili ne oralni test glukozne tolerancije, jedini neklasi ni, nezavisni prediktori MetS LAP i insulinska rezistencija merena sa HOMA-IR. Ovaj nalaz je u skladu sa nalazom Ranasinha i sar. 2015 koji su pokazali da je insulinska rezistencija glavni determinišu i faktor MetS kod žena sa PCOS. Jedina studija koja je do sada pored ove, prou avala prediktivnu sposobnost LAP-a za

postojanje MetS u PCOS populaciji, je studija Xiang i sar. koji su na značajno manjem broju ispitanica u odnosu na ovu studiju pokazali da LAP predviđa postojanje MetS definisanim prema IDF kriterijumima kod žena sa PCOS (Xiang i sar 2013). Do sada ni jedna studija nije proučavala diskriminativnu sposobnost LAP-a za predikciju MetS u PCOS fenotipovima. U ovom istraživanju je pokazano da je kod svih PCOS fenotipova LAP superiorniji za dijagnostikovanje MetS u odnosu na HOMA-IR kao i sve druge kriterijume MetS definisanog prema NECP-ATP III kriterijumima.

D) Objavljeni radovi koji čine deo doktorske disertacije

1. Macut D, Božić Anti I, Bjekić Macut J, Panidis D, Tziomalos K, Vojnovi Milutinovi D, Stanojlović O, Kastratović Kotlica B, Petakov M, Milić N. Lipid accumulation product is associated with metabolic syndrome in women with polycystic ovary syndrome. *Hormones (Athens)* 2015; doi: 10.14310/horm.2002.1592

E) Zaključak (obrazloženje naučnog doprinosa)

Doktorska disertacija „**Analiza fenotipova sindroma policističnih jajnika i njihov uticaj na metaboličke promene**” dr Ivane Božić Anti predstavlja originalni naučni doprinos u razumevanju različitog fenotipskog ispoljavanja kompleksnog endokrinološkog poremećaja kao što je sindrom policističnih jajnika. Ovim istraživanjem rasvetljeni su izvesni aspekti heterogenih rezultata koji se sreću u literaturi koja se bavi proučavanjem PCOS. Istaknuto je da se metabolički komorbiditeti kao i hormonska disregulacija pre svega u smislu hiperandrogenemije ispoljavaju na različiti način u različitim fenotipovima, što bi takođe moglo da bude razlog različitog odgovora žena sa PCOS na istu terapiju. Jedan od najvažnijih doprinosa je taj da rezultati dobijeni u ovom istraživanju omogućavaju da se u svakodnevnoj kliničkoj praksi koristi enjem različitih surogat markera metaboličkog sindroma (pre svega LAP i HOMA-IR) na lakši i brži način sprovodi neophodna redovna evaluacija u ovoj populaciji mladih žena koja je u značajnom kardiometaboličkom riziku još u mladosti. Na ovaj način bi se omogućilo pravovremeno postavljanje dijagnoze metaboličkog sindroma odnosno procena stepena kardiometaboličkih komplikacija kod svake individualne žene sa PCOS ponaosob, a što bi omogućilo već i ranije sprovođenje preventive, odnosno uvođenje adekvatne terapije.

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, imajući u vidu dosadašnji naučni rad kandidata, komisija predlaže Naučnom veće u Medicinskom fakultetu Univerziteta u Beogradu da prihvati doktorsku disertaciju dr Ivane Božić i odobri njenu javnu odbranu radi sticanja akademske titule doktora medicinskih nauka.

U Beogradu, 22.03.2016.

Članovi Komisije:

Prof. dr Miloš Žarković

Prof. dr Milan Petaković

N.saradnik Danijela Vojnović Milutinović

Mentor:

Prof. dr Đuro Macut
