

NAUČNOM VEĆU MEDICINSKOG FAKULTETA  
UNIVERZITETA U BEOGRADU

Na sednici Naučnog veća Medicinskog fakulteta u Beogradu, održanoj dana 21.11 2019. godine, broj 9700/06-GM, imenovana je komisija za ocenu završene doktorske disertacije pod naslovom:

**„Značaj multidetektorske kompjuterizovane tomografije koronarnih krvnih sudova u evaluaciji ishemijske bolesti srca u pacijenata obolelih od dijabetes melitusa tip 1“**

kandidata mr dr Gordane Milić, zaposlene u Klinici za endokrinologiju, dijabetes i bolesti metabolizma, Kliničkog centra Srbije u Beogradu. Mentor je prof. dr. Svetozar Damjanović.  
Komentor je prof. dr Željko Marković.

Komisija za ocenu završene doktorske disertacije imenovana je u sastavu:

1. Prof. dr Ružica Maksimović, profesor Medicinskog fakulteta u Beogradu
2. Prof. dr Miloš Žarković, profesor Medicinskog fakulteta u Beogradu
3. Doc. dr Radiša Vojinović, docent Medicinskog fakulteta u Kragujevcu

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 Gordane Milić napisana je na ukupno 98 strana i podeljena je na sledeća poglavlja: uvod, ciljevi rada, materijal i metode, rezultati, diskusija, zaključci i literatura. U disertaciji se nalazi ukupno 35 tabela i 23 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 podpoglavljju Uvoda opisan je značaj dijabetes melitusa u nastanku ishemijske bolesti srca. U drugom i trećem podpoglavljju su razmatrana osnovna obeležja ateroskleroze i faktori rizika za nastanak iste. U četvrtom podpoglavljju prikazana je patogeneza ateroskleroze i morfologija ateroma a u petom podpoglavljju opisane su dijagnostičke procedure za detekciju ateroskleroze. U šestom podpoglavljju Uvoda razmatran je značaj faktora inflamacije (CRP, homocistein, 25(OH)

vitamin D) u nastanku ateroskleroze a u sedmom podpoglavlju je istaknuta klinička važnost rane detekcije ateroskleroze. U poslednjem podpoglavlju Uvoda je opisan značaj multidetektorske kompjuterizovane tomografije (MDCT koronarografija) koronarnih krvnih sudova u ranoj detekciji ateroskleroze koronarnih arterija.

Na osnovu podataka detaljno opisanih u Uvodu formulisan je **cilj rada** u ovoj doktorskoj disertaciji, naveden u odgovarajućem poglavlju, a to je da se utvrdi da li je MDCT koronarografija dobra dijagnostička procedura u ranoj detekciji ateroskleroze koronarnih arterija u pacijenata obolelih od dijabetes melitusa tip 1 (DMT1). U poglavlju Cilj rada takođe su zatim izloženi istraživački zadaci koji su obuhvatili sledeća ispitivanja:

1. Istražiti da li je ultrazvučno merenje debljine intimomedijalnog kompleksa (IMK) karotidnih arterija dobar skrining test za detekciju rane ateroskleroze u pacijenata obolelih od DMT1.
2. Ispitati da li povišen nivo HbA1c, hiperhomocisteinemija i snižena koncentracija 25(OH) vitamina D koreliraju sa umerenim stenozama koronarnih arterija u pacijenata obolelih od DMT1.
3. Istražiti da li postoji korelacija između HbA1c, homocisteina, debljine IMK karotidnih arterija i 25(OH) vitamina D u pacijenata obolelih od DMT1.
4. Ispitati uticaj pola na pojavu ateroskleroze koronarnih arterija u pacijenata obolelih od DMT1.

Saglasno Cilju rada i izvedenim zadacima, u ovoj doktorskoj disertaciji je primenjen veliki broj istraživačkih pristupa, detaljno objašnjenih u poglavlju **Metodologija**.

Istraživanje je sprovedeno u periodu od 2014. do 2016. godine kao studija preseka u Centru za radiologiju i MR Kliničkog centra Srbije i Klinici za endokrinologiju, dijabetes i bolesti metabolizma, Kliničkog centra Srbije i obuhvatilo je 80 pacijenata obolelih od dijabetes melitusa tip 1 (40 žena i 40 muškaraca), starosne dobi od 19 do 40 godina, sa trajanjem dijabetesa preko 5 godina. Svim pacijentima su ispitivani faktori rizika za aterosklerozu (povišen HbA1c, pušenje, hipertenzija, povišen ukupni holesterol, povišen LDL holesterol, povišeni trigliceridi, snižen HDL holesterol, povišen homocistein, snižen 25(OH) vitamin D). Ispitanicima je ehosonografskim pregledom karotidnih arterija na aparatu Siemens Accuson Antares merena debljina IMK karotidnih arterija a MDCT koronarografijom na 64 MD VCT aparatu (Light Speed GE) određivani su „Ca score index“ i luminalno suženje koronarnih arterija. Svi prikupljeni podaci su analizirani

savremenim metodama deskriptivne i analitičke statistike uz računarsku podršku i softverski paket SPSS 22.0. Od deskriptivnih statističkih metoda korišćeni su: apsolutni i relativni brojevi, mere centralne tendencije i mere disperzije. Od analitičkih metoda korišćeni su testovi razlike i testovi povezanosti. Parametarski testovi korišćeni u ovoj studiji su t test i analiza varijanse ponovljenih merenja. Neparametarski testovi korišćeni u ovoj studiji su Mann-Whitney U test i Hi-kvadrat test. Za analizu povezanosti korišćena je korelaciona i regresiona analiza. Korelaciona analiza korišćena u ovoj studiji je, ili Pirsonova (linearna) ili Spirmanova (rangovna). Od regresionih analiza korišćena je univarijantna i multivarijantna regresiona analiza. Površina ispod krive (Receiver Operating Characteristics, ROC) korišćena je za procenu dijagnostičke moći homocisteina, 25(OH) vitamina D i debljine IMK karotidnih arterija u dijagnostici stenoza koronarnih arterija. Sve p vrednosti manje od 0,05 su smatrane statistički značajnim.

U poglavlju **Rezultati** detaljno su opisani i jasno predstavljeni svi dobijeni rezultati.

U tekstu poglavlja **Diskusija** dobijeni rezultati su sistematski osvetljeni iz aspekta relevantnih saznanja iz literature i jasno su iznesene pretpostavke o značaju MDCT koronarografije u primarnoj prevenciji ishemijske bolesti srca u pacijenata obolelih od dijabetes melitusa tip 1.

Na kraju su u poglavlju **Zaključak** precizno formulisani sledeći zaključci koji su proistekli iz dobijenih rezultata, a navedeni su odgovarajućim redom shodno postavljenim ciljevima i zadacima rada:

1. Multidetektorska kompjuterizovana tomografija koronarnih krvnih sudova je dobra dijagnostička procedura u ranoj detekciji ateroskleroze koronarnih arterija u pacijenata obolelih od DMT1 u mlađem životnom dobu.
2. Ultrazvučno merenje debljine IMK karotidnih arterija je visoko specifičan test za detekciju rane ateroskleroze koronarnih arterija u pacijenata obolelih od DMT1.
3. Povišen nivo HbA1c, hiperhomocisteinemija i snižena koncentracija 25(OH) vitamina D u serumu su prediktori umerenih stenoza koronarnih arterija u pacijenata obolelih od dijabetes melitusa tip 1. Homocistein je jedini nezavisan prediktor umerenih stenoza koronarnih arterija u pacijenata obolelih od DMT1.
4. Postoji značajna korelacija između homocisteina i HbA1c i homocisteina i debljine IMK karotidnih arterija u pacijenata obolelih od DMT1.

5. Postoji značajna korelacija 25(OH) vitamina D i HbA1c i 25(OH) vitamina D i homocisteina u pacijenata obolelih od DMT1.
6. Umerene stenoze desne koronarne arterije (RCA) koreliraju sa ženskim polom u pacijenata obolelih od DMT1.

U poglavlju Literatura naveden je značajan broj od 161 referenci koje su u neposrednoj vezi sa problematikom kojom se bavi ova doktorska disertacija.

## **B) Kratak opis postignutih rezultata**

U poglavlju Rezultati kandidat dr. Gordana Milić je jasno, pregledno i dokumenovano iznela rezultate svojih istraživanja onim redom kojim su postavljeni istraživački zadaci u doktorskoj disertaciji.

Iz statističke analize je isključeno 7 pacijenata sa malim stenozama (luminalni dijаметar koronarne arterije smanjen za manje od 25%) koronarne arterije i istraživanje je nastavljeno na uzorku od 73 pacijenata koji su svrstani u dve grupe: pacijenti bez stenozе koronarne arterije 45 (61,64%) i pacijenti sa umerenom (luminalni dijаметar koronarne arterije smanjen za 25-50%) stenozom koronarne arterije 28(38,36%). Stenoze koronarnih arterija su detektovane MDCT koronarografijom i najčešće su bile prisutne na RCA.

Pokazano je da je ultrazvučno merenje debljine intimo-medijalnog kompleksa visoko specifičan test 95,6% (Se 71,4%,PPV 90,0,NPV 84,3%) za detekciju umerenih stenoza koronarnih arterija.

Korelacijom je utvrđeno da su povišen nivo HbA1c, hiperhomocisteinemija i snižena koncentracija 25(OH) vitamina D u serumu prediktori umerenih stenoza koronarnih arterija. Multivarijantna regresiona analiza je pokazala da je jedino homocistein statistički značajan prediktor, odnosno jedini nezavisan prediktor umerenih stenoza koronarnih arterija. Takođe je korišćenjem merenja površine ispod krive (Receiver Operating Characteristics,ROC) dokazan dijagnostički značaj homocisteina, 25(OH) vitamina D i debljine intimomedijalnog kompleksa (IMK) karotidnih arterija u detekciji umerenih stenoza koronarnih arterija.

Korelacijom je ukazano na povezanost pozitivnog smera i solidne jačine između homocisteina i HbA1c i homocisteina i debljine IMK karotidnih arterija. Takođe je nađena jaka i negativnog smera korelaciju između 25(OH)vitamina D i HbA1c i negativna i slabe jačine korelacija između 25(OH) vitamina D i homocisteina.

Nađeno je da je razlika među polovima u pogledu prisustva stenozе RCA na samoj granici konvencionalnog nivoа značajnosti. Naime, nađeno je da žene imaju dva puta češće stenozu RCA koronarne arterije.

### **C) Usporedna analiza doktorske disertacije sa rezultatima iz literature**

Od uvođenja “dual source” tehnologije MDCT koronarografije, ovaj način vizualizacije krvnih sudova srca, veličine i vrsta plaka u krvnim sudovima ima značajnu ulogu u dijagnostici angine pectoris kod pacijenata obolelih od dijabetes melitusa tip 1 i tip 2 (Djalali R i sar.,2009, Madaj PM i sar., 2012). Velika kohortna studija koja je obuhvatila 2776 pacijenata obolelih od DMT1 i trajala od 2001. do 2013.godine (Madaj PM i sar.,2017) ukazala je na višu stopu kardiovaskularnog mortaliteta u odnosu na opštu populaciju.

U ovoj studiji su kod jedne trećine asimptomatskih pacijenata, obolelih od dijabetes melitusa tip 1, MDCT koronarografijom detektovane umerene stenozе koronarnih arterija.

Subklinička koronarna bolest se ranije i češće javlja u DMT1 u odnosu na opštu populaciju (Krantz JS i sar.,2004). Endotelna disfunkcija je povezana sa hiperglikemijom i trajanjem dijabetesa (Costacou T i sar.,2005). Povišen HbA1c je prediktor pojave stenozа koronarnih arterija u DMT1(KozakovaM,PolomboC,2016). Oslo studija je pokazala nakon 18 godina praćenja da povećanje HbA1c za 1% povećava rizik za pojavu koronarne stenozе za 6,4% (Krolewski AS i sar.,1987).

Ova studija je potvrdila da je povišen nivo HbA1c prediktor umerenih stenozа koronarnih arterija u pacijenata obolelih od DMT1.

McCullli je prvi put 1969.godine pronašao povezanost hiperhomocisteinemije i ateroskleroze. Smatra se da je uloga hiperhomocisteinemije u endotelnoj disfunkciji posredovana mehanizmima koji uključuju oksidativni stres, aktivaciju NF- $\kappa$ B, inhibiciju azot monoksid sintaze (eNOS)(NOS-3)(Bagi Z i sar.,2001). Hiperhomocisteinemija preko aktivacije NF- $\kappa$ B može da uzrokuje povećanu gensku ekspresiju monocitnog hemoatraktant proteina 1 (MCP-1) i stimulacijom migracije monocita u intimu arterijskog zida da izazove oštećenje bubrega (Hwang SY i sar.,2008;). Moguć je razvoj dijabetesne retinopatije zbog hiperhomocisteinemijom uzrokovane inhibicije endotelne NO sintaze i odsustva dilatacije retinalnih arteriola (OmaeT i sar.,2013).

Ova studija je dokazala da je homocistein nezavisan prediktor umerenih stenoza koronarnih arterija.

Vitamin D doprinosi inhibiciji oksidativnog stresa i inhibiciji adhezije monocita posredovanjem u regulaciji glutamat cistein ligaze (GCL) i glutationa (GSH) u endotelnim ćelijama (Jain SK, Micinski D, 2013). Studije na ćelijskim kulturama su pokazale da je hiperglikemija i/ili povećanje acetoacetata verovatno povećavaju produkciju slobodnih radikala kiseonika (ROS) i smanjuju ekspresiju cistationin  $\gamma$  lijaze (CSE) na nivou mRNA, što dovodi do oštećene H<sub>2</sub>S homeostaze a da vitamin D ima ulogu u ushodnoj regulaciji CSE (Jain SK, Micinski D, 2013). Vitamin D inhibiše sintezu renina i na taj način suprimuje sistem rennin-angiotenzin-aldosteron (RAA) (Pfeifer M i sar., 2001).

Neke studije su pokazale da je prevalence deficita vitamina D dvostruko veća u DMT1 u poređenju sa kontrolnom grupom zdravih pacijenata (Hypponen E i sar., 2001, Serra-Planas E i sar., 2015). Ispitivan je uticaj specifičnih receptorskih polimorfizama vitamina D na alele HLADRB1 (Israini N i sar., 2009). Finska kohortna studija je pokazala da davanje vitamina D u dozi od 2000 IU dnevno, tokom prve godine života smanjuje rizik od nastanka DMT1 u toku praćenja od 30 godina za 78% (Hypponen E i sar., 2001).

Nađeno je da deficit 25(OH) vitamina D može da dovede do dijabetesne nefropatije i to inhibicijom apoptoze podocita koju indukuje hiperglikemija (Wang Yi i sar., 2012). Smatra se da je angiogeneza glavni mehanizam kojim deficit vitamina D indukuje nastanak retinopatije u DMT1 (Singh A i sar., 2013). Vitamin D ima neuroprotektivno dejstvo na periferne nerve uticajem na regulaciju neurotropina, kao što je NGF (nerve growth factor) (Neveu I i sar., 1994).

Ova studija je dokazala da je 25(OH) prediktor umerenih stenoza koronarnih arterija.

Zadebljanje IMK karotidnih arterija je dragocen pokazatelj subkliničke koronarne arterijske bolesti zahvaljujući pozitivnoj korelaciji istog sa kardiovaskularnim faktorima rizika (Cooney M i sar., 2015). Kod dece, adolescenata i odraslih obolelih od DMT1 debljina IMK karotidnih arterija je bila veća u odnosu na kontrolnu grupu nedijabetičara (Polak JF i sar., 2011, Larsen JR i sar., 2005, Sibal L i sar., 2009). DCCT/EDIC studija (Diabetes Control and Complications Trial/Epidemiology and Diabetes Interventions and Complications Study) pokazala je da pacijenti oboleli od DMT1 imaju ubrzanu progresiju debljine IMK karotidnih arterija u odnosu na nedijabetičare u periodu od 6 godina od početka praćenja.

Zabeležena je značajna korelacija debljine IMK karotidnih arterija i stenoza koronarnih arterija merena intravaskularnim ultrazvukom kod žena obolelih od DMT1 (Larsen JR i sar.,2005). DCCT/EDIC studija je otkrila pozitivnu korelaciju debljine IMK karotidnih arterija i hiperhomocisteinemije u pacijenata obolelih od DMT1(Basu i sar.,2014). The Young Finns Study je otkrila negativnu povezanost debljine IMK karotidnih arterija i 25(OH)Vitamina D u pacijenata obolelih od DMT1(Jounala M i sar.,2015).

Ova studija je potvrdila da je zadebljanje IMK karotidnih arterija prediktor koronarnih stenoza. Nađena je značajna korelacija debljine IMK karotidnih arterija i homocisteina.

Postoje podaci u literaturi da je hiperhomocistenemija povezana sa deficitom vitamina D u zdravih osoba i u pacijenata obolelih od DMT2 (AmerM,QayyumR,2014, Mao Xi sar.,2016). Homocistein se metaboliše transsulfuracijom i remetilacijom. Put transsulfuracije predstavlja ključni put za konverziju u cistationin u prisustvu enzima cistationin  $\beta$  sintetaze (CBS) (JheeKH,Kruger WD,2005). Značajno povećanje aktivnosti ovog enzima otkriveno je u preosteoblastima nakon inkubacije sa aktiviranim vitaminom D. Ovo sugerira da je CBS ciljni gen za VDR i da vitamin D može da modulira metabolizam homocisteina i tako utiče na njegovu koncentraciju u serumu (Kriebitzsch C i sar.,2011).

Ova studija je pokazala da postoji statistički značajna korelacija vitamina D sa homocisteinom negativnog smera i slabe jačine.

Žene obolele od DMT1 imaju dva puta veći rizik od nefatalnih i fatalnih kardiovaskularnih događaja u odnosu na muškarce (Huxley R i sar.,2015). U žena je češća mikrovaskularna bolest u odnosu na muškarce(Kobayash Y i sar,2015).Nađeno je da žene sa mutacijama BRCA gena imaju češće koronarnu bolest(Singh KK i sar.,2001). Patogeneza koronarne bolesti u žena nije najpoznatija. Hipoestrogenemija i PCOS su mogući uzroci (Shaw LJ i sar.,2009).Žene obolele od DMT1 imaju češće PCOS (codnerE,Escobar-Morreale HF,2007),kasnu menarhu(Kjaer K i sar.,1992),amenoreju (Djursing H i sar.,1985),ranu menopauzu (Codner E,Escobar-Morreale HF,2007). Prevalenca depresije kod žena obolelih od DMT1 starosne dobi od 33 do 44 godina je dvostruko veća u odnosu na muškarce (AndersonRJ i sar,2001).

Ova studija je pronašla izraženiju aterosklerozu RCA koronarne arterije u žena nego u muškaraca.

## **D) Objavljeni radovi koji čine deo doktorske disertacije**

Milić G, Gačić J, Mladenović-Marković A, Soldatović I, Matić D, Popović S, Marković Ž, Damjanovic S. Carotid intima-media thickness, 25-OH vitamin D, homocysteine and subclinical coronary atherosclerosis in patients with type 1 diabetes mellitus. Arch Biol Sci.2019; <https://doi.org/10.2298/ABS190706048M>.

## **E) Zaključak (obrazloženje naučnog doprinosa)**

Na osnovu analize priložene dokumentacije, članovi komisije smatraju da je predložena tema doktorske disertacije „Značaj multidetektorske kompjuterizovane tomografije koronarnih krvnih sudova u evaluaciji ishemijske bolesti srca u pacijenata obolelih od dijabetes melitusa tip 1“ kandidata dr Gordane Milić značajna i aktuelna i da u potpunosti ispunjava uslove za originalan naučni doprinos u istraživanjima koja se odnose na ranu detekciju ateroskleroze koronarnih arterija u pacijenata obolelih od dijabetes melitusa tip 1 u mlađem životnom dobu. Uvođenjem prospektivnog EKG trigerovanja u toku MDCT koronarografije, snimanje se vrši u određenom delu srčanog ciklusa (deo dijastole) i redukcijom voltaže cevi, može se postići smanjenje zračenja u toku snimanja i do 90%, na vrednosti manje od 1mSv. Sve navedeno navodi na zaključak da bi korišćenje ove dijagnostičke procedure na savremenim aparatima u asimptomatskih pacijenata obolelih od DMT1 sa multiplim kardiovaskularnim faktorima rizika (srednji rizik korišćenjem SCORE Sistema(Systematic Coronary Risk Evaluation) ili nizak rizak po SCORE Sistemu i pozitivna porodična anamneza za koronarnu bolest kod muškog rođaka prvog stepena mlađeg od 55 godina i ženskog rođaka prvog stepena mlađeg od 65 godina) moglo da bude značajno u prevenciji ishemijske bolesti srca.

Dosadašnji stručni i naučni rad kandidata dr. Gordane Milić, ali i mentora prof.dr Svetozara Damjanovića, kao i komentora prof.dr Željka Markovića, kao i aktuelnost predložene teme, predstavljaju realnu osnovu da je istraživanje izvršeno kompetentno i na savremeni način.

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. Gordani Milić odobri odbranu doktorske disertacije sa predloženom temom.



U Beogradu, 30. 11 2019.

Članovi Komisije:

Prof. dr Ružica Maksimović

---

Prof. dr Miloš Žarković

---

Doc. dr Radiša Vojinović

---

Mentor:

Prof. dr Svetozar Damjanović

---

Komentor:

Prof. dr Željko Marković

---