

**NAU NOM VE U MEDICINSKOG FAKULTETA  
UNIVERZITETA U BEOGRADU**

Na sednici Nau nog ve a Medicinskog fakulteta u Beogradu, održanoj dana 19.03.2015. godine, broj 4600/13, imenovana je komisija za ocenu završene doktorske disertacije pod naslovom:

**“ POVEZANOST OKSIDATIVNOG STRESA I STEPENA INFLAMACIJE SA  
KARDIOVASKULARNIM FAKTORIMA RIZIKA U POPULACIJI GOJAZNIH  
ŽENA U POSTMENOPAUIZU „**

kandidata Mr sci. dr Aleksandre Klisi , zaposlene u Centru za laboratorijsku dijagnostiku, Dom zdravlja, u Podgorici. Mentor je Doc. dr Marija Mati , komentor je Prof. dr Na a Vasiljevi .

Komisija za ocenu završene doktorske disertacije imenovana je u sastavu:

1. Prof. dr Tatjana Simi , redovni profesor na katedri za Medicinsku i klini ku biohemiju, Medicinskog Fakulteta, Univerziteta u Beogradu
2. Prof. dr uro Macut, vanredni profesor na katedri za Internu medicinu, Medicinskog Fakulteta, Univerziteta u Beogradu
3. Prof. Jelena Kotur-Stevuljevi , vanredni profesor na Farmaceutskom fakultetu u Beogradu

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. dr Aleksandre Klisi napisana je na 100 strana i podeljena je na slede a poglavlja: uvod, ciljevi istraživanja, ispitanici i metode, rezultati, diskusija, zaklju ci i literatura. Rad sadži ukupno 47 priloga i to: 5 slika, 24 tabele i 18 dijagrama. Na kraju disertacije dat je pregled citirane literature u vidu 183 literaturna podatka.

Doktorska disertacija sadrži sažetak na srpskom i engleskom jeziku, biografiju kandidata, podatke o komisiji i spisak skraćenica korištenih u tekstu.

**Uvod** je kroz četiri segmenta podeljen na nekoliko logičkih celina. U prvom segmentu definisana je gojaznost i navedeni su patofiziološki procesi gojaznosti sa posebnim osvrtom na celularne mehanizme oštećenja i disfunkciju adipocita, kao i polne razlike u distribuciji masnog tkiva. U drugom delu detaljno je obrađen oksidativni stres i dat jasan pregled markera oksidativnog stresa. Pored toga, u ovom odeljku opisani su enzimski i neenzimski mehanizmi antioksidantne zaštite. U trećem segmentu Uvoda dr Klisić se detaljno bavi vezom gojaznosti, inflamacije i oksidativnog stresa. U poslednjem delu Uvoda opisano je stanje postmenopauze praćeno brojnim promenama u organizmu. Jedna od njih je i redistribucija masnog tkiva, što za posledicu ima povećan nivo oksidativnog stresa i stepena inflamacije. U ovom odeljku posebna pažnja je posvećena faktorima rizika za oboljevanje od kardiovaskularnih bolesti, kod žena u postmenopauzi, s obzirom da su kardiovaskularne bolesti vodeći uzrok smrtnosti u ovom životnom razdoblju.

Da bi se, makar delimično, rasvetlila povezanost oksidativnog stresa i stepena inflamacije sa kardiovaskularnim faktorima rizika u populaciji gojaznih žena u postmenopauzi dr Aleksandra Klisić je postavila sledeće **Ciljeve rada:**

- da se ispita postojanje razlike u nivou markera inflamacije i parametara oksidativnog stresa kod gojaznih žena u postmenopauzi, u odnosu na normalno uhranjene
- da se ispita postojanje povezanosti markera inflamacije i parametara oksidativnog stresa sa različitim kardiovaskularnim faktorima rizika u populaciji gojaznih žena u postmenopauzi
- da se ispita postojanje povezanosti markera inflamacije i parametara oksidativnog stresa sa hormonskim statusom u populaciji žena u postmenopauzi

U poglavlju **Ispitanici i metode** detaljno je opisano istraživanje po tipu studije slučaja i kontrola (engl. *case-control study*) u koju je bilo uključeno 100 gojaznih i 50 normalno uhranjenih ispitanica uparenih po godinama, koje su u periodu postmenopauze. Ispitanice su regrutovane u periodu od aprila –decembra 2014. godine u Javnoj zdravstvenoj ustanovi Doma zdravlja u Podgorici, tokom rutinske kontrole kod svog ginekologa u Dispanzeru za žene. Jasno su definisani kriterijumi uključivanja i isključivanja ispitanica u studiju. Svim ispitanicama je uzeta anamneza i obavljen je klinički pregled. Pored toga, izvršena su potrebna antropometrijskih merenja: telesne visine, telesne mase i obima struka. Izračunat je indeks telesne mase (ITM). Ispitanice su na osnovu vrednosti ITM i obima struka podeljene u 2 grupe: 1. studijska grupa –grupa gojaznih ispitanica (ITM  $\geq 25$  kg/m<sup>2</sup>, obim struka  $\geq 80$ cm). 2. kontrolna grupa - grupa normalno uhranjenih ispitanica (ITM  $< 25$  kg/m<sup>2</sup> i obim struka  $< 80$ cm). Takođe je svim ispitanicama uzeta krv za određivanje biohemijskih parametara. Jedan deo biohemijskih parametara određen je u Centru za laboratorijsku dijagnostiku Doma zdravlja u Podgorici, dok je drugi deo biohemijskih analiza izveden na Institutu za medicinsku i kliničku biohemiju Medicinskog fakulteta Univerziteta u Beogradu. Studija je planirana u skladu sa etičkim standardima datim u Helsinškoj deklaraciji i u skladu sa pravilima Etičkog komiteta Medicinskog fakulteta u Beogradu. Sve osobe od kojih je uziman biološki material, uz Dozvolu etičkog odbora Javne zdravstvene ustanove Doma zdravlja-Podgorica, koji je kasnije korišćen u studiji, kao i lični podaci, potpisale su pristanak da su obavestene o ciljevima i o očekivanim ishodima studije.

Detaljno i jasno je opisana metodologija koja je korišćena u radu. Pokazatelji antioksidantnog kapaciteta u plazmi (aktivnost superoksid dismutaze i glutation peroksidaze) određivani su spektrofotometrijski, primenom odgovarajućih metoda. Koncentracije markera inflamacije su određivane imunonefelometrijski. Ukupan broj leukocita je određen na hematološkom brojaču. Koncentracije insulina i polnih hormona su određivane standardnim imunoheimijskim metodama, dok su ostali biohemijski parametri (glikemija, HOMA-IR, lipidni status, parametri bubrežne funkcije, albumini, bilirubin) određivani standardnim procedurama-spektrofotometrijski. Takođe su detaljno opisane sve korišćene metode deskriptivne i analitičke statistike, a kao granica statističke značajnosti, uzeto je  $p < 0.05$ .

U poglavlju **Rezultati** detaljno su izneti i veoma jasno, tabelarno i grafički, predstavljeni svi dobijeni rezultati.

**Diskusija** je napisana jasno i pregledno. Dobijeni rezultati su detaljno analizirani i upoređeni sa relevantnim podacima iz literature. Svi rezultati su veoma pažljivo interpretirani, uz prepoznavanje ograničenja studije.

**Zaključci** sažeto prikazuju najvažnije nalaze koji su proistekli iz rezultata rada i diskusije.

Korišćena **literatura** sadrži spisak od 183 reference.

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

Rezultati doktorske teze dr Aleksandre Klisić rada su pokazali da su gojazne žene u postmenopauzi izložene većem stepenu oksidativnog stresa u odnosu na normalno uhranjene žene u istom životnom periodu. Naime, gojazne žene u postmenopauzi imaju sniženu aktivnost glutacione peroksidaze i povećanu aktivnost superoksid dizmutaze i mokraćne kiseline, u odnosu na normalno uhranjene žene. Pored toga, izmenjena aktivnost glutacione peroksidaze i superoksid dizmutaze korelira sa stepenom težine menopauze kod gojaznih žena u postmenopauzi. Dobijeni rezultati pokazuju da su kod gojaznih žena u postmenopauzi nezavisni prediktori vrednosti mokraćne kiseline antropometrijski parametri (obim struka) i pokazatelji bubrežne funkcije (cistatin C i veličina glomerularne filtracije). Sledeći deo rezultata doktorske teze potvrđuje da je gojaznost praćena hroničnom inflamacijom. Naime, značajno povišene vrednosti markera inflamacije, hsCRP-a i fibrinogena, kao i adipokina, retinol-vezujućeg proteina 4 i cistatina C, su zabeležene u grupi gojaznih ispitanica u postmenopauzi u poređenju sa normalno uhranjenim ženama. Pored toga, dobijeni rezultati pokazuju da su kod gojaznih žena u postmenopauzi veličina glomerularne filtracije i obim struka nezavisni prediktori vrednosti cistatina C, dok su HOMA-IR i trigliceridi nezavisni prediktori vrednosti fibrinogena. Takođe je zabeleženo da su obim struka i SHBG nezavisni prediktori vrednosti hsCRP-a kod ove populacije žena. Dobijeni rezultati doktorske disertacije

dr Klisi govore u prilog tome da gojazne žene u postmenopauzi imaju nepovoljniji kardiometaboli ki profil u odnosu na normalno uhranjene žene. Naime, rezultati pokazuju da gojazne žene u postmenopauzi imaju ve i stepen insulinske rezistencije (više vrednosti glikemije, insulina i HOMA-IR), nepovoljniji lipidni status (više vrednosti triglicerida, a niže vrednosti HDL-holesterola), kao i ve e vrednosti krvnog pritiska u odnosu na normalno uhranjene žene. Pored toga, pokazano je da je kod gojaznih žena u postmenopauzi obim struka nezavisni prediktor vrednosti SHBG, insulinemiju i FSH.

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

Oksidativni stres i gojaznost su u fokusu mnogih istraživa kih grupa ve duže vreme. Me utim, njihovi rezultati su i dalje opre ni. Studija Olusija i sar. (*Olusi i sar. 2002*) je zabeležila niže aktivnosti eritrocitne superoksid dizmutaze (SOD) i glutation peroksidaze (GPx) kod gojaznih osoba, a sli ne rezultate kod gojaznih muškaraca dobila je grupa Ozate i sar. (*Ozata i sar. 2002*). S druge strane, Sfar i saradnici nalaze porast aktivnosti SOD kod gojazne dece u pore enju sa kontrolnom grupom, dok se aktivnosti GPx nisu razlikovale u ispitivanim grupama (*Sfar i sar. 2013*). Tako e, pojedini istraživa i ne nalaze razliku u aktivnosti SOD kod normalno uhranjenih, predgojaznih i gojaznih ispitanika (*Brown i sar. 2009*). Rezultati ove doktorske teze pokazuju sniženu aktivnost GPx kod gojaznih u pore enju sa normalno uhranjenim ženama u postmenopauzi., što je u saglasnosti sa rezultatima *Fernandez-Sancheza i saradnika (2009)*. Naime, poslednjih godina potvr eno je da aktivnost GPx u plazmi najve im delom poti e od GPx3 izoenzima. Poznato je da je ekspresija GPx3 snižena kod gojaznih osoba, što rezultuje sniženom aktivnosti ovog enzima u plazmi. S druge strane, rezultati dr Klisi pokazuju da je aktivnost drugog antioksidantnog enzima, SOD, blago povišena u grupi gojaznih u pore enju sa normalno uhranjenim ženama u postmenopauzi.

Odnos ITM, obima struka i ostalih parametara gojaznosti sa pokazateljima antioksidativne zaštite je još uvek otvoreno pitanje. Rezultati dr Klisi ne pronalaze zna ajnu korelaciju izme u aktivnosti SOD i GPx i kardiometaboli kih faktora rizika. Nepostojanje

korelacije sa tradicionalnom kardiometaboli im faktorima rizika potvr uju i neke druge studije (*Keaney i sar. 2003; Sfar i sar. 2013*). S druge strane, rezultati dobijeni u ovoj tezi beleže zna ajnu pozitivnu korelaciju aktivnosti antioksidantnih enzima, SOD i GPx, sa FSH kod gojaznih žena u postmenopauzi.

Rezultati pove ane vrednosti mokra ne kiseline kod gojaznih u odnosu na normalno uhranjene ispitanice, kao i njena povezanost sa obimom struka, cistatinom C i eGFR u ovoj disertaciji su u skladu sa rezultatima studije *Tsushime i sar. (2013)* koji su pokazali da samo masno tkivo produkuje i sekretuje mokra nu kiselinu

Rezultati teze dr Klisi potvr uje da je gojaznost pra ena inflamacijom (povišene vrednosti markera inflamacije, hsCRP-a i fibrinogena, kao i adipokina, retinol-vezuju eg proteina 4 i cistatina C). Tako e je pokazana povezanost markera inflamacije sa kardiovaskularnim faktorima rizika i pojedinim antropometrijskim parametrima. Rezultati su u saglasnosti sa rezultatima *Lapice i sar. (2009), Mora i sar. (2006), Naour i sar (2010), Grahama i sar (2006)*.

#### **D) Objavljeni rad koji ini deo doktorske disertacije**

1. Klisic AN, Vasiljevic ND, Simic TP, Djukic TI, Maksimovic MZ, Matic MG. Association Between C-Reactive Protein, Anthropometric and Lipid Parameters Among Healthy Normal Weight and Overweight Postmenopausal Women in Montenegro. *Lab Medicine* 2014; 45 (1): 2-6.

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

Doktorska disertacija **“POVEZANOST OKSIDATIVNOG STRESA I STEPENA INFLAMACIJE SA KARDIOVASKULARNIM FAKTORIMA RIZIKA U POPULACIJI GOJAZNIH ŽENA U POSTMENOPAUIZU”** dr Aleksandre Klisi predstavlja originalni naučni doprinos u istraživanjima koja se odnose na potencijalne biomarkere kod gojaznih žena u postmenopauzi. Ovim istraživanjem utvrđeno je izmenjen nivo antioksidativne zaštite, kao i povećan stepen inflamacije kod gojaznih žena u postmenopauzi u odnosu na normalno uhranjene. Pored toga, pokazana je i povezanost inflamacije i oksidativnog stresa sa faktorima kardiovaskularnog rizika kod gojaznih žena u postmenopauzi. Dobijeni rezultati mogu biti uvod u dalja longitudinalna istraživanja o značaju oksidativnog stresa i inflamacije u nastanku kardiovaskularnih komplikacija kod gojaznih žena u postmenopauzi.

Ova doktorska disertacija je urađena prema svim principima naučnog istraživanja. Ciljevi su jasno formulisani i 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 i zaključci.

Na osnovu svega navedenog, komisija predlaže Naučnom veću u Medicinskom fakulteta Univerziteta u Beogradu da prihvati doktorsku disertaciju dr Aleksandre Klisi i odobri njenu javnu odbranu radi sticanja akademske titule doktora medicinskih nauka.

U Beogradu, 04.05.2015.

### **LANOVI KOMISIJE:**

Prof. dr Tatjana Simić, predsednik

Doc. dr Marija Matić, mentor

Prof. dr Đuro Macut

Prof. dr Nađa Vasiljević, komentor

Prof. Jelena Kotur-Stevuljević