

NAUČNOM VEĆU MEDICINSKOG FAKULTETA
UNIVERZITETA U BEOGRDU

Na sednici Naučnog veća Medicinskog fakulteta u Beogradu, održanoj dana 09.07.2018. godine, broj 5940/17-BS, imenovana je komisija za ocenu završene doktorske disertacije pod naslovom:

„Ispitivanje homocisteina kao markera ateroskleroze kod pacijenata sa metaboličkim sindromom“

kandidata Mr sci med. dr Branka Srećkovića, zaposlenog u Klinici Aurora u Beogradu. Mentor je Prof dr Igor Mrdović, komentor je Prof dr Mirjana Šumarac-Dumanović

Komisija za ocenu završene doktorske disertacije imenovana je u sastavu:

1. Prof. dr Svetlana Vujović, profesor Medicinskog fakulteta u Beogradu
2. Prof dr Predrag Mitrović, profesor Medicinskog fakulteta u Beogradu
3. Prof. dr Ljuba Mandić, profesor Hemijskog fakulteta 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 doktorke disertacije

Doktorska disertacija Mr sci med. dr Branka Srećkovića napisana je na ukupno 118 strana i podeljena je na sledeća poglavlja: uvod, ciljevi rada, materijal i metode, rezultati, diskusija, zaključci i literatura. U disertaciji se nalazi ukupno 26 tabela i 31 grafikon. Doktorska disertacija sadrži sažetak na srpskom i engleskom jeziku, biografiju kandidata, podatke o komisiji i spisak skraćenica korišćenih u tekstu.

U **uvodu** je opisan metabolizam homocistein i koje je mesto homocisteina medju ostalim faktorima rizika za aterosklerotske vaskularne bolesti. Razmatrani su faktori koji doprinose povećanju homocisteina, patološki mehanizmi aterotromboze uzrokovani povišenim vrednostima homocisteina i uticaj homocisteina na endotelnu disfunkciju. Takodje je razmatran načaj nivoa

homocisteina u aterotrombotskim događajima i terapijske mogućnosti korekcije povišenih nivoa homocisteina u serumu.

U nastavku uvoda opisan je istorijat metaboličkog sindroma (MS), definisan metabolički sindrom i navedeni faktori MS koji podrazumevaju stomačnu gojaznost, poremećaje glikoregulacije, predijabetes ili dijabetes melitus tip 2, hiperlipoproteinemiju, hipertenziju kao i insulinsku rezistenciju koja je u osnovi MS. Opisani su patofiziološki aspekti MS, proinflamatorni citokini, oksidativni stres i povezanost hiperhomocisteinemije i MS. Takođe opisan je siMS skor- jednostavna metoda za kvantifikaciju metaboličkog sindroma kao i siMS skor rizika za aterosklerotske vaskularne komplikacije i navedena primena ovog skora u kliničkom radu i naučnim istraživanjima.

Ciljevi rada su precizno definisani. Prvi cilj bio je da se ispita da li osobe sa metaboličkim sindromom imaju veće vrednosti antropometrijskih parametara, homocisteina i drugih metaboličkih parametara u odnosu na osobe bez MS kao i stepen korelacije homocisteina sa faktorima MS: obim struka, glikemija, krvni pritisak, HDL- holesterol i trigliceridi i drugim pridruženim faktorima inflamacije i tromboze, mokraćnom kiselinom, parametrima funkcije jetre i funkcije bubrega. Drugi cilj odnosio se na ispitivanje korelacije siMS skora i siMS skora rizika sa homocisteinom i drugim pridruženim faktorima MS. Treći cilj rada odnosio se na ispitivanje povezanost hiperhomocisteinemije sa aterosklerotskim komplikacijama: kardiovaskularna bolest (angina pectoris, infarkt miokarda), cerebrovaskularni insult, stenoza karotidnih krvnih sudova i promene na krvnim sudovima donjih ekstremiteta

U poglavlju **materijal i metode** opisana je klinička metodologija koja je uključivala popunjavanje anketa o ličnoj i porodičnoj anamnezi, fizikalni pregled, antropometrijska merenja visine, težine, obima struka i kukova, izračunavanje indeksa telesne mase i laboratorijske analize. Sprovedena je studija preseka na Klinici za endokrinologiju, dijabetes i bolesti metabolizma, Kliničkog Centra Srbije. Kompletan internistički kardiološki pregled (EKG, merenje krvnog pritiska) i druge metode potrebne ili moguće za određivanje kardiološkog statusa obavljene su u KBC Bežanijska Kosa. Za postavljanje dijagnoze metaboličkog sindroma korišćena je ATP III klasifikacija. Korišćen je si MS skor za kvantifikaciju metaboličkog sindroma i siMS skor rizika za aterosklerotske vaskularne komplikacije. U okviru laboratorijskih analiza određivan je oralni glukoza tolerans test (OGTT) za procenu poremećaja glikoregulacije i ispitivanje insulinske

rezistencije preko homeostatskog modela za određivanje rezistencije (HOMA-IR). U laboratorijskim analizama određivani su osnovni i pridruženi faktori metaboličkog sindroma (lipidni status, hepatogram, mokraćna kiselina, CRP, homocistein, mikroalbuminurija i ostali parametri bubrežne funkcije). Ultrazvučni pregledi karotidnih krvnih sudova krvnih sudova donjih ekstremiteta obavljani su u KBC Zemun u a korišćen je ultrazvučni "Toshiba Xario", sa uskom linearnom sondom za dopler preglede koja radi u opsegu frekvenca od 5 do 10 MHz. Ova studija je odobrena od strane Etičkog komiteta, Medicinskog fakulteta, Univerziteta u Beogradu i pacijenti su dali pisani pristanak pre uključivanja u studiju. U statističkoj metodologiji korišćene su deskriptivne i analitičke statističke metode. Od analitičkih statističkih metoda korišćeni su testovi razlike i analiza povezanosti. Od testova razlike korišćeni su parametarski i neparametarski testovi. Za analizu povezanosti korišćena je korelaciona i regresiona analiza. Od regresionih analiza korišćena je linearna regresiona analiza. Sve vrednosti manje od 0.05 smatrane su statistički značajnim. Svi podaci su obrađeni u softverskom paketu SPSS 12.0 (Čikago, Illinois, SAD).

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.

Zaključci sažeto prikazuju najvažnije nalaze koji su proistekli iz rezultata rada. Korišćena **literatura** sadrži spisak od 180 referenci.

B) Kratak opis postignutih rezultata

Pacijenti sa MS imali su procentualno veću zastupljenost gojaznosti, hipertenzije, hiperlipidemije i pridruženih aterosklerotskih komplikacija angine pectoris, infarkta miokarda i cerebrovaskularne bolesti i bolesti perifernih krvnih sudova u odnosu na pacijente bez MS. Pacijenti sa MS imali statistički značajno više vrednosti svih komponenti MS (stomačna gojaznost, glikemija našte, sistolni i dijastolni pritisak, trigliceridi uz niže vrednosti HDL- holesterola) kao i apolipoprotein B u odnosu na pacijente bez MS. Statistički značajno više vrednosti insulina u 0 minutu i 120 minutu OGTT, prosečne vrednosti insulina u OGTT, HOMA IR kod pacijenata sa MS ukazuju na izraženiji hiperinsulinizam i insulinsku rezistenciju u ovoj grupi. Od pridruženih faktora MS, faktor inflamacije CRP, acidum urikum, ALT i gama-GT kao

parametri jetrine funkcije i masne jetre također su pokazali statistički značajno više vrednosti u odnosu na pacijente bez MS. Vrednosti mikroalbuminurije, ureje, kreatinina, klirensa kreatinina kao pokazatelji bubrežne funkcije i homocistein bile su više kod pacijenata sa MS u odnosu na pacijente bez MS ali bez statističke značajnosti. Ovaj rad je pokazao korelaciju homocisteina sa trigliceridima, brojem MS, siMS skorom rizika, trombocitima, ureom i klirenskom kreatinina. Veća stomačna gojaznost praćena je hiperinsulinemijom, izraženijom IR, višim vrednostima faktora inflamacije -CRP i višim vrednostima homocisteina kod pacijenata sa MS doprinela je bržem razvoju ateroskleroze i hroničnih vaskularnih komplikacija koje su izraženije u ovoj grupi u odnosu na pacijente bez MS.

U ovom radu siMS skor je pokazao korelaciju sa pridruženim faktorima MS (logCRP, acidum urikum, log HOMA IR, fibrinogenom, homocisteinom), sa jetrinim parametrima (logALT, log gama-GT) kao i sa parametrima retencije azotnih materija- kreatininom i serumskim ukupnim proteinima. Korelacija siMS skora sa parametrima jetrine funkcije pokazala je da je masna jetra pridružen faktor MS a korelacija siMS skora sa kreatininom i ukupnim proteinima ukazuje da početni poremećaji bubrežne funkcije mogu biti pridruženi faktori MS. Više vrednosti mikroalbuminurije kod pacijenata sa MS u poredjenju sa pacijentima bez MS ukazuju na početni stepen bubrežnog oštećenja kod gojaznih pacijenata. siMS skor rizika pokazao je korelaciju sa homocisteinom, trombocitima, acidum urikum kao i parametrom retencije azotnih materija- ureom i ukupnim albuminima i proteinima u serumu. Kako formula za izračunavanje siMS skora rizika uključuje i starostnu dob i porodičnu anamnezu za aterosklerotske vaskularne komplikacije ova korelacija je dokaz da se hiperhomocisteinemija povećava sa godinama i da je pokazatelj rizika za vaskularne komplikacije. siMS skor rizika ukazuje da gojaznost i hiperproteinski unos povećavaju hiperhomocisteinemiju sa starenjem, rizik bubrežnih poremećaja i aterosklerotskih komplikacija. Naši rezultati su pokazali da su pacijenti sa metaboličkim poremećajima i vaskularnim komplikacijama imali više vrednosti homocisteina u odnosu na pacijente bez poremećaja. siMS skor rizika u ovom radu pokazao je statistički značajnu korelaciju ne samo sa homocisteinom već i sa zadebljanjem intime medije leve karotidne arterije, trombocitima, mokraćnom kiselinom, ureom, totalnim proteinima i albuminima. Korelacija siMS skora rizika sa gore navedenim parametrima govori u prilog hiperhomocisteinemije kao faktora rizika za progresiju i razvoj vaskularnih komplikacija posebno kod osoba sa metaboličkim sindromom, koje imaju porodično opterećenje vaskularnih

komplikacija i nasljedjene obrascce nepravilnog higijensko-dijetetskog načina života.

Mediterranska ishrana siromašna zasićenim masnoćama životinjskog porekla a bogata je mononezasićenim masnoćama iz maslinovog ulja, omega 3- polinezasićenim masnoćama iz morske ribe i složenim ugljenim hidratima i dijetnim vlaknima iz voća, povrća i žitarica, uz fizičku aktivnost i prestanak pušenja može doprineti smanjenju homocisteina, svih faktora MS a time i prevenciji aterosklerotskih vaskularnih događaja.

C) Usporedna analiza doktorske disertacije sa rezultatima iz literature

U našem radu više vrednosti homocisteina nadjenje su kod pacijenata sa MS koji su imali statistički značajno veću stomačnu gojaznost i sve pridružene faktore MS, u odnosu na pacijente bez MS. Veća stomačna gojaznost praćena je hiperinsulinemijom izraženijom IR kao i višim vrednostima faktora inflamacije, CRP kod pacijenata sa MS doprinela je bržem razvoju ateroskleroze i hroničnih vaskularnih komplikacija koje su izraženije u ovoj grupi u odnosu na pacijente bez MS. Više vrednosti mikroalbuminurije koja oslikava endotelnu disfunkciju bubrega, nadjene su kod pacijenata sa MS, čime se takodje objašnjava veći rizik za aterosklerotske komplikacije u ovoj grupi u odnosu na pacijente bez MS. Pozitivna korelacija homocisteina sa trigliceridima, brojem komponenti MS i siMS skorom rizika ukazuje na veliku povezanost hiperhomocisteinije sa rizikom za razvoj aterosklerotskih komplikacija. Pozitivna korelacija homocisteina sa siMS skorom rizika potvrđuje da se homocistein povećava sa starošću i da zavisi od genetike, odnosno porodične anamneze za aterosklerotske vaskularne komplikacije. Ovo potvrđuju i naši rezultati viših vrednosti homocisteina kod pacijenata sa gojaznošću, hipertenzijom, hiperlipoproteinemijom, anginom pectoris i CVI. Prema istraživanjima Obeid R i Herrmann W postoji povezanost između hiperhomocisteinije i hiperlipoproteinije a dijabetes melitus tip 2 se smatra uobičajenim uz hiperhomocisteiniju i hiperholesterolemiju (Obeid R i sar. 2009). Kroz četiri studije Vayá i sar. pokazali su da je povišen nivo homocisteina najčešće povezan sa stomačnom gojaznošću (Vaya A i sar 2011). Takodje se kroz literaturu povišen nivo homocisteina povezuje se povišenim nivoom insulina kod gojaznih osoba. Slično je dokazano u studiji Golbahar J. i saradnika kada je nadjena pozitivna korelacija između nivoa homocisteina i BMI, insulina i HOMA-IR (Golbahar J i sar 2007). Povezanost homocisteina i lipidnog statusa takodje je dokumentovana u studijama na ispitanicima sa blagom hiperhomocisteinijom. U Hordaland studiji, koja je obuhvatila 5917

ispitanika, nadjena je pozitivna korelacija izmedju povećanog unosa zasićenih masnih kiselina i hiperhomocisteinemije. Koncentracije homocisteina bile su više za 8.8% u grupi sa najvećim unosom zasićenih masnih kiselina, u poredjenju sa grupom koja je imala najmanji unos zasićenih masnih kiselina (Berstad P i sar 2003). Način ishrane i gojaznost može negativno uticati na nivo homocisteina jer se prekomerna telesna težina ili gojaznost karakterišu unosom visoko kalorične hrane sa malim sadržajem vitamina (Pinto WJ 2009). Hiperproteionska ishrana mesnog i mlečnog porekla najzastupljenija u ishrani gojaznih osoba sa MS može doprineti povećanoj glomerulskoj filtraciji sa povećanim klirensom kreatinina, uzrokovati hiperhomocisteinemiju i oštećenje bubrega. Istraživanja Xiao Y i saradnika pokazala su da unos mesa i mlečnih proizvoda može povećati nivo homocisteina u serumu (Xiao Y i sar 2013). Verhief P i saradnici koristeći dijetu sa različitim unosom proteina pokazali su da veći proteinski unos dovodi do postprandijalnih skokova homocisteina (Verhoef P i sar 2005). Xiao Y i saradnici ispitali su povezanost unosa proteina hrane i nivoa homocisteina kod koronarografisanih pacijenata. Istraživanje na životinjama je pokazalo da je povišen unos životinjskih proteina u korelaciji sa hiperhomocisteinemijom dok visok proteinski unos biljnog porekla u negativnoj korelaciji sa nivoom homocisteina u serumu (Xiao Y i sar 2013).

Nekoliko istraživanja pokazalo je jasnu korelaciju homocisteina u serumu i incidence za koronarnu bolest i aterosklerotske vaskularne promene na karotidnim i perifernim krvnim sudovima (Okura T i sar 2014). Povezanost homocisteina sa aterogenezom i vaskularnim komplikacijama uključuje faktore inflamacije i tromboze, oksidativni stres, endotelijalnu disfunkciju i proliferaciju glatkih mišićnih ćelija (Hayden MR, Tyagi SC 2004). U ovom radu korelacija siMS skora rizika sa homocisteinom, acidum urikum, trombocitima, zadebljanjem intime medije leve karotidne arterije, urejom, ukupnim proteinima i albuminima ukazuje da gojaznost sa svojim pridruženim faktorima značajno doprinosi vaskularnim komplikacijama. siMS skor rizika ukazuje da gojaznost i hiperproteinski unos povećavaju hiperhomocisteinemiju sa starenjem, rizik bubrežnih poremećaja i aterosklerotskih komplikacija.

D) Objavljeni radovi koji čine deo doktorske disertacije

- Sreckovic B, Dimitrijević Srećković V, Soldatovic I, Colak E, Sumarac-Dumanovic M, Janeski H, Janeski N, Gačić J, Mrdović I. Homocysteine is a marker for metabolic syndrome and atherosclerosis. *Diabetes Metab Syndr* 2017;11:179–82.

- Srećković B, Mrdović I, Soldatović I, Resan M, Janeski N, Colak E, Janeski H, Šumarac-Dumanović M, Joković M, Ivanović N, Gačić J, Dimitrijević Srećković V. Metabolic Syndrome Co-Founding Factors-Confirmed by siMS score and siMS risk Score. Vojnosanitetski Pregled, 2018, in press.
- Sreckovic B, Soldatovic I, Colak E, Mrdovic I, Sumarac-Dumanovic M, Janeski H, Janeski N, Gacic J, Dimitrijevic-Sreckovic V. Homocysteine is the confounding factor of metabolic syndrome- confirmed by siMS score. Drug Metabolism and Personalized Therapy (DMPT). 2018, <https://doi.org/10.1515/dmpt-2017-0013>

E) Zaključak (obrazloženje naučnog doprinosa)

Doktorska disertacija „Ispitivanje homocisteina kao markera ateroskleroze kod pacijenata sa metaboličkim sindromom“ dr Branka Srećkovića predstavlja originalni naučni doprinos vezan za aterosklerotske komplikacije i ulogu homocisteina kao markera ateroskleroze kod gojaznih osoba sa metaboličkim sindromom. Ovom doktorskom disertacijom koristeći siMS skor pokazano je da je homocistein pridruženu faktor metaboličkog sindroma uz faktore inflamacije, faktore tromboze, insulinsku rezistenciju i druge faktore. Korelacija homocisteina sa brojem faktora MS ukazuje na povezanost homocisteina i rizika za vaskularne komplikacije kod pacijenata sa više prisutnih faktora za MS. Ovaj rad ukazuje na neophodnost prevencije gojaznosti a time i na smanjene vrednosti homocisteina i svih pridruženih aterosklerotskih komplikacija higijensko-dijetetskim merama, povećanom fizičkom aktivnošću uz prestanak pušenja.

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 Mr sci med.dr Branka Srećkovića i odobri njenu javnu odbranu radi sticanja akademske titule doktora medicinskih nauka.

U Beogradu, 11.07.2018.

Članovi Komisije:

Prof. dr Svetlana Vujović

Prof. dr Predrag Mitrović

Prof dr Ljuba Mandić

Mentor:

Prof dr Igor Mrdović

Prof dr Mirjana Šumarac-Dumanović
