

**NAUČNOM VEĆU MEDICINSKOG FAKULTETA
UNIVERZITETA U BEOGRADU**

Na sednici Naučnog veća Medicinskog fakulteta u Beogradu, održanoj dana 23.03.2021. godine, broj 9700/13-CT, imenovana je Komisija za ocenu završene doktorske disertacije pod naslovom:

„Procena učestalosti kardiovaskularnih bolesti i poremećaja metabolizma šećera i masti kod pacijenata sa spinalnom mišićnom atrofijom“

kandidata dr Stefana Đorđevića, zaposlenog u Univerzitetnoj dečjoj klinici u Beogradu. Mentor je prof. dr Milan Đukić, a komentori su prof. dr Ljiljana Marković-Denić i prof. dr Vedrana Milić-Rašić.

Komisija za ocenu završene doktorske disertacije imenovana je u sastavu:

1. Prof. dr Tatjana Pekmezović, profesor Medicinskog fakulteta u Beogradu
2. Prof. dr Vojislav Parezanović, profesor Medicinskog fakulteta u Beogradu
3. Prof. dr Dimitrije Nikolić, profesor Medicinskog fakulteta u Beogradu
4. Doc. dr Vera Zdravković, docent Medicinskog fakulteta u Beogradu
5. Potpukovnik prof. dr Tihomir Ilić, profesor Medicinskog fakulteta Vojnomedicinske Akademije 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 doktorske disertacije

Doktorska disertacija dr Stefana Đorđevića napisana je na ukupno 67 strana i podeljena je na sledeća poglavlja: uvod, ciljevi rada, materijal i metode, rezultati, diskusija, zaključci i

literatura. U disertaciji se nalazi ukupno 10 tabela i 11 slika. Doktorska disertacija sadrži sažetak na srpskom i engleskom jeziku, biografiju kandidata i podatke o Komisiji.

Uvod započinje definicijom, epidemiologijom i kliničkom slikom spinalne mišićne atrofije (SMA), sa posebnim osvrtom na tipove SMA, njihovu incidenciju i prevalenciju. Potom se govori o genetskoj osnovi i postavljanju dijagnoze bolesti, a ukratko se navodi i uloga proteina SMN u odvijanju brojnih ćelijskih procesa. Zatim se jasno i koncizno iznose postojeća znanja i podaci o kardiovaskularnim poremećajima i poremećajima metabolizma šećera i masti kod pacijenata sa SMA, kao i kod životinjskih modela bolesti. Kada su u pitanju kardiovaskularni poremećaji kod SMA, prvo se govori o poremećajima srčane strukture i funkcije, potom aritmijama i autonomnoj disfunkciji, a na kraju o arterijskoj hipertenziji i poremećajima vaskularizacije. Jasno su i precizno navedeni svi poremećaji metabolizma šećera i masti koji su opisani kod SMA, uključujući insulinsku rezistenciju, hiper- i hipoglikemiju, metaboličku acidozu, hiperlipidemiju, poremećaje metabolizma masnih kiselina i hiperleptinemiju. Takođe se navode i definicije metaboličkog sindroma kod dece i adolescenata i odraslih. Na kraju se govori o savremenom lečenju i praćenju pacijenata sa SMA, sa posebnim naglaskom na nove terapijske mogućnosti.

Ciljevi rada su precizno definisani, a obuhvataju određivanje prevalencije različitih kardiovaskularnih poremećaja i poremećaja metabolizma šećera i masti kod pacijenata sa SMA, utvrđivanje prevalencije metaboličkog sindroma među gojaznim pacijentima sa SMA, kao i ispitivanje povezanosti tipa SMA, motorne funkcionalnosti i indeksa telesne mase sa kardiovaskularnim poremećajima i poremećajima metabolizma šećera i masti. Takođe je ispitivana povezanost između skora na proširenoj Hamersmitovoj (Hammersmith) skali motorne funkcionalnosti (HFMSE skor) i z-skora za indeks telesne mase (ITM) i nivoa leptina.

U poglavlju **materijal i metode** navedeno je da se radi o studiji preseka sprovedenoj u Klinici za neurologiju i psihijatriju za decu i omladinu i u Univerzitetškoj dečjoj klinici u Beogradu, u periodu od jula 2018. do jula 2019. godine. Istraživanjem su obuhvaćeni bolesnici sa genetskom dijagnozom tipa 2 i 3 SMA uzrasta do 19 godina. Jasno su navedeni kriterijumi za uključivanje i isključivanje iz studije. Studija je sprovedena u skladu sa Helsinškom deklaracijom, a odobrena je i od strane Etičkog komiteta, Medicinskog fakulteta, Univerziteta u Beogradu. Od svih ispitanika i/ili njihovih roditelja ili staratelja dobijena je pismena saglasnost za učešće u studiji. Kod svih pacijenata su učinjena odgovarajuća klinička ispitivanja koja su

obuhvatala detaljnu anamnezu, fizikalni pregled, testove motorne funkcije, ehokardiografiju, ultrazvuk jetre, elektrokardiografiju, 24-časovni holter monitoring i laboratorijske analize (srčani biomarkeri, nivo glukoze i insulina u serumu, hemoglobin A1c, lipidni profil, testovi za procenu funkcije jetre, C-reaktivni protein [CRP] i nivoi leptina). Kod pacijenata koji su ispunjavali odgovarajuće kriterijume, učinjeni su test oralnog opterećenja glukozom (OGTT), 24-časovni ambulatorni monitoring krvnog pritiska (AMKP) i magnetna rezonanca srca. Za procenu povezanosti između z-skora za ITM i logaritma HOMA-IR (homeostatski model za procenu insulinske rezistencije), kao i povezanosti između z-skora za obim struka (OS) i logaritma HOMA-IR, korišćena je regresiona analiza i analiza varijanse (ANOVA). Pirsonov koeficijent korelacije i Spirmanov koeficijent korelacije ranga korišćeni su redom za procenu povezanosti između z-skora za ITM i logaritamski transformisanih vrednosti leptina i procenu povezanosti između skora na proširenoj Hamersmitovoj (Hammersmith) skali motorne funkcionalnosti (HFMSE skor) i nivoa leptina.

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

Diskusija je napisana pregledno i jasno, uz uporedni prikaz rezultata drugih istraživanja i njihovo poređenje sa rezultatima doktorske disertacije.

U **zaključcima** su koncizno i jasno navedeni glavni zaključci koji slede iz rezultata istraživanja.

Korišćena **literatura** sadrži spisak od 218 referenci.

B) Provera originalnosti doktorske disertacije

Proverom originalnosti doktorske disertacije korišćenjem programa iThenticate, a na osnovu Pravilnika o postupku provere originalnosti doktorskih disertacija koje se brane na Univerzitetu u Beogradu („Glasnik Univerziteta u Beogradu“, broj 204/18), utvrđeno je da procenat podudarnosti iznosi zbirno 11%. Pritom, treba imati u vidu da je najveći stepen podudarnosti (ukupno 3%) posledica je prethodno publikovanih rezultata istraživanja doktoranda koji su proistekli iz njegove doktorske disertacije. Tako postoji 2% sličnosti sa [1] i 1% sličnosti sa [2]. Oba navedena rada su naučni doprinos kandidata, gde je kandidat prvi autor. Pojedinačno učešće svih ostalih referenci i drugih izvora (internet) u podudaranju je vrlo malo (ispod 1%). Navedeni stepen podudarnosti je posledica korišćenja bibliografskih podataka, citata, standardnih obrazaca izjava na kraju teze i, naročito, uobičajenih termina i složenih rečeničnih

konstrukcija koje se koriste u stručnoj literaturi.

Na osnovu svega iznetog, a u skladu sa članom 8. stav 2, kao i članom 9. Pravilnika o postupku provere originalnosti doktorskih disertacija koje se brane na Univerzitetu u Beogradu, izveštaj ukazuje na originalnost doktorske disertacije.

- [1.] Djordjevic SA, Milic-Rasic V, Brankovic V, Kosac A, Dejanovic-Djordjevic I, Markovic-Denic L, et al. Glucose and lipid metabolism disorders in children and adolescents with spinal muscular atrophy types 2 and 3. *Neuromuscul Disord.* 2021;S0960-8966(21)00029-8.
- [2.] Djordjevic SA, Milic-Rasic V, Brankovic V, Kosac A, Vukomanovic G, Topalovic M, et al. Cardiac findings in pediatric patients with spinal muscular atrophy types 2 and 3. *Muscle Nerve.* 2021;63(1):75-83.

C) Kratak opis postignutih rezultata

U istraživanje su uključena ukupno 42 bolesnika sa SMA (27 sa tipom 2 i 15 sa tipom 3 SMA) čija je medijana starosti iznosila 7,2 godine (opseg 1,2–18,9 godina). Nijedan pacijent nije imao strukturnu bolest srca, osim jedne pacijentkinje koja je imala prolaps mitralne valvule. Niko od pacijenata nije imao znake srčane disfunkcije. EKG je pokazao sinusnu tahikardiju kod 7 pacijenata (16,7%) i produžen PR interval kod jednog pacijenta (2,4%). Holter monitoring je pokazao benigne ventrikularne aritmije kod 2 pacijenta (4,8%) i retke supraventrikularne ekstrasistole kod jednog pacijenta. Prosečna 24-časovna srčana frekvencija je bila povišena kod 6 pacijenata (14,3%), dok je minimalna frekvencija bila povećana, a maksimalan RR interval snižen kod 23 pacijenta (54,8%). Šest pacijenata (14,3%) je imalo povišen krvni pritisak mereno sfigmomanometrom ili na AMKP-u. Metaboličko ispitivanje je učinjeno kod 37 pacijenata, od kojih je 11 (29,7%) ispunilo kriterijume za predijabetes, ali nijedan nije imao jasno ispoljen tip 2 dijabetesa. Postojala je statistički značajna kvadratna povezanost između z-skora za ITM i logaritma HOMA-IR, $F(2, 34) = 22,5$, $p < 0,001$, kao i između z-skora za OS i logaritma HOMA-IR, $F(2, 34) = 19,6$, $p < 0,001$. Dislipidemija je otkrivena kod 11 pacijenata (29,7%), a 4 pacijenta (10,8%) su imala steatozu jetre na ultrazvuku. Šesnaest pacijenata (43,2%) je imalo najmanje jedan patološki nalaz (predijabetes, dislipidemiju ili steatozu jetre). Svi pacijenti sem jednog su bili nepokretni, pri čemu je njih 12 (75%) imalo ITM ≥ 85 . percentila. Blago povišene vrednosti CRP-a registrovane su kod 4 pacijenta sa SMA koji su imali prekomernu telesnu težinu

ili su bili gojazni, a dvoje od njih je imalo predijabetes. Postojala je jaka pozitivna linearna korelacija između z-skora za ITM i logaritamski transformisanih vrednosti leptina, $r(35) = 0,879$, $p < 0,001$. Sa druge strane, nije nađena statistički značajna korelacija između HFMSE skora i nivoa leptina, $r_s(35) = 0,24$, $p = 0,15$. Tri pacijenta su ispunila kriterijume za metabolički sindrom. Jedno malo dete razvilo je hipoglikemiju nakon gladovanja preko noći.

D) Usporedna analiza doktorske disertacije sa rezultatima iz literature

U literaturi se mogu naći različiti opisi poremećaja miokardne strukture i funkcije kod SMA: dilatativna kardiomiopatija, dijastolna disfunkcija, hipertrofija miokarda i fibroza miokarda. Međutim, uglavnom se radi o prikazima slučajeva koji ne dokazuju uzročno-posledičnu vezu između navedenih kardioloških poremećaja i SMA. Pored toga, pitanje je da li se u svim ovim slučajevima zaista radilo o SMA, s obzirom da mnogi od ovih opisa potiču iz perioda kada nije postojala mogućnost genetske potvrde bolesti. U našoj studiji nismo otkrili prisustvo kardiomiopatije niti poremećene sistolne ili dijastolne funkcije srčanih komora, što je u skladu sa rezultatima dve skorije retrospektivne studije, autora Paladina i saradnika i Bianka i saradnika, o srčanim poremećajima kod pacijenata sa tipom 2 i 3 SMA. Naša studija je prva koja je pokazala da pacijenti sa tipom 2 i 3 SMA nemaju povišene vrednosti troponina T i NT-proBNP-a, odnosno da nema laboratorijskih pokazatelja oštećenja miokarda i srčane disfunkcije. Takođe smo prvi pokazali da pacijenti sa SMA nemaju fibrozu miokarda na magnetnoj rezonanci srca.

Sa druge strane, postoji dosta opisa poremećaja srčanog ritma kod pacijenata sa SMA, naročito kod onih sa tipom 3 SMA. Međutim, u većini slučajeva se radi o prikazima slučajeva od kojih su mnogi objavljeni pre nego što je bilo dostupno genetsko testiranje na SMA. U studiji Paladina i saradnika, niko od pacijenata nije imao aritmije na EKG-u. Bianco i saradnici su retrospektivno analizirali zapise 24-časovnog holter monitoringa kod 157 pacijenata, ali nisu našli poremećaje srčanog ritma. Autori su takođe naveli da su upoređivali prosečnu 24-časovnu srčanu frekvencu, dobijenu pomoću holter monitoringa, sa odgovarajućim uzrasno-specifičnim referentnim vrednostima. Međutim, u referenci na koju se Bianco i saradnici pozivaju, uopšte se ne navode vrednosti prosečne 24-časovne srčane frekvence, već samo vrednosti maksimalne i minimalne 24-časovne srčane frekvence i to samo za decu uzrasta 7–11 godina. Prema tome, diskutabilno je da li je i kako ispitivano da li pacijenti sa SMA imaju povećanu ili sniženu

prosečnu 24-časovnu srčanu frekvencu. Dalje, postoje radovi u literaturi koji su pokazali da pacijenti sa SMA mogu razviti bradiaritmije. Nasuprot tome, naša studija je jasno pokazala da pacijenti sa SMA mogu imati ubrzanu srčanu frekvencu, pre nego bradikardiju.

Rezultati naše studije ukazuju na to da su povećana količina masnog tkiva i insulinska rezistencija osnovni uzrok hiperglikemije kod pedijatrijskih pacijenata sa tipom 2 i 3 SMA, što odgovara patogenezi nastanka tipa 2 dijabetesa. Ovi nalazi su u skladu sa pilot studijom Dejvisove i saradnika, ali je ona bila sprovedena na samo 6 pacijenata sa tipom 2 SMA. Sa druge strane, naši rezultati su u suprotnosti sa teorijom koju su izneli Bovermanova i saradnici, a koja tvrdi da hiperglikemija kod SMA nastaje usled pojačanog lučenja glukagona od strane α -ćelija pankreasa ili povećane osetljivosti tkiva na dejstvo glukagona, pri čemu je osetljivost na insulin povećana, a ne snižena.

Degiz i saradnici su ispitivali lipidni status 52 dece sa tipom 2 SMA i 6 sa tipom 3 SMA. Autori su konstatovali da je 21 od 58 pacijenata (36,2%) imao izmenjen najmanje jedan lipidni parametar, ali nisu naveli nikakav opis telesnog sastava svojih pacijenata. U našoj studiji je ukupno 11 pacijenata (29,7%) imalo izmenjen bar jedan lipidni parametar, ali je većina njih imala ITM ≥ 85 . percentila. Pored toga, dva pacijenta sa hiperholesterolemijom su imala pozitivnu porodičnu anamnezu za hiperholesterolemiju. Degiz i saradnici su takođe naveli da postoji povezanost između dislipidemije i hipoglikemije kod mišjih modela SMA ($SMN^{2B/-}$) i pacijenata sa SMA. Nasuprot tome, naša studija je pokazala moguću udruženost hiperglikemije, a ne hipoglikemije, i dislipidemije kod pacijenata sa SMA.

Naši rezultati pokazuju da su više vrednosti leptina povezane sa većim ITM i obrnuto, što je u skladu sa onim što se viđa u opštoj pedijatrijskoj populaciji. Međutim, za razliku od nalaza Kelbela i saradnika, nismo pokazali da postoji povezanost između motorne funkcionalnosti (procenjene pomoću HFMSE skora) i nivoa leptina kod pacijenata sa tipom 2 i 3 SMA.

E) Objavljeni radovi koji čine deo doktorske disertacije

1. Djordjevic SA, Milic-Rasic V, Brankovic V, Kosac A, Vukomanovic G, Topalovic M, Marinkovic D, Mladenovic J, Pavlovic AS, Bijelic M, Djukic M, Markovic-Denic L. Cardiac findings in pediatric patients with spinal muscular atrophy types 2 and 3. *Muscle Nerve*. 2021 Jan;63(1):75-83. doi: 10.1002/mus.27088.
2. Djordjevic SA, Milic-Rasic V, Brankovic V, Kosac A, Dejanovic-Djordjevic I,

Markovic-Denic L, Djuricic G, Milcanovic N, Kovacevic S, Petrovic H, Djukic M, Zdravkovic V. Glucose and lipid metabolism disorders in children and adolescents with spinal muscular atrophy types 2 and 3. *Neuromuscul Disord.* 2021 Feb 3:S0960-8966(21)00029-8. doi: 10.1016/j.nmd.2021.02.002.

F) Zaključak (obrazloženje naučnog doprinosa)

SMA je retko neuromišićno oboljenje koje je povezano sa značajnim morbiditetom i mortalitetom. Poslednjih godina je postignut značajan pomak u lečenju SMA, sa pojavom terapije koja menja prirodan tok ove bolesti. Međutim, može se očekivati da će produžen životni vek pacijenata sa težim oblicima SMA dovesti do veće zastupljenosti poremećaja koji su direktno ili indirektno posledica hroničnog deficita SMN proteina, uključujući kardiovaskularne i metaboličke poremećaje. Učestalost klinički značajnih kardiovaskularnih poremećaja kod dece i adolescenata sa tipom 2 i 3 SMA je jako niska, a za njihovo otkrivanje dovoljno je uzeti detaljnu anamnezu i uraditi kompletan fizikalni pregled. Ovakvim pristupom se značajno smanjuje potreba za dopunskim dijagnostičkim ispitivanjima, bez bojazni da će se propustiti klinički značajno kardiovaskularno oboljenje. Dalje, pacijenti sa SMA mogu razviti slične poremećaje metabolizma šećera i masti kao i njihovi parnjaci u opštoj populaciji. Na primer, pacijenti sa SMA koji imaju prekomernu telesnu težinu ili su gojazni, mogu razviti insulinsku rezistenciju, povišenu glikemiju našte, poremećenu toleranciju glukoze, dislipidemiju i masnu jetru, dok mala deca sa SMA, koja imaju nisku telesnu težinu, mogu da razviju hipoglikemiju. Nepokretni pacijenti sa SMA, koji imaju prekomernu telesnu težinu ili su gojazni, posebno su skloni razvoju poremećaja metabolizma šećera i masti i arterijske hipertenzije. Prema tome, poremećaji metabolizma šećera i masti kod pacijenata sa SMA mogu nastati sekundarno, usled izmenjenog telesnog sastava, što naglašava potrebu za optimalnom ishranom i redovnim praćenje telesnog sastava, kako bi se sprečio razvoj tipa 2 dijabetesa i kardiovaskularnih bolesti kod ove osetljive grupe pacijenata sa SMA.

Ova doktorska disertacija je urađena prema svim principima naučnog istraživanja. Ciljevi su koncizno i precizno definisani, naučni pristup je jasan, precizan i ispravan, a metodologija rada savremena i originalna. Rezultati su pregledno i sistematično prikazani i diskutovani, a iz njih su izvedeni odgovarajući zaključci koji se direktno mogu primeniti u kliničkoj praksi. 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 dr Stefana Đorđevića i odobri njegovu javnu odbranu radi sticanja akademske titule doktora medicinskih nauka.

U Beogradu, 02.04.2021.

Članovi Komisije:

Prof. dr Tatjana Pekmezović

Prof. dr Vojislav Parezanović

Prof. dr Dimitrije Nikolić

Doc. dr Vera Zdravković

Potpukovnik prof. dr Tihomir Ilić

Mentor:

Prof. dr Milan Đukić

Komentori:

Prof. dr Ljiljana Marković-Denić

Prof. dr Vedrana Milić-Rašić
