

НАСТАВНО-НАУЧНОМ ВЕЋУ БИОЛОШКОГ ФАКУЛТЕТА УНИВЕРЗИТЕТА У БЕОГРАДУ

На VIII редовној седници Наставно-научног већа Биолошког факултета Универзитета у Београду, одржаној 10.06.2016. године, прихваћен је извештај ментора проф. др Есме Исеновић, научног саветника и проф. др Јелене Ђорђевић о урађеној докторској дисертацији мр Сање С. Соскић, стручног саветника Института за нуклеарне науке „Винча“ Универзитета у Београду, под насловом "Асоцијација промена антропометријских и метаболичких параметара и активности ензима антиоксидативне заштите са полиморфизмом LEP G-2548A у гену за лептин код гојазних особа у Србији", и одређена је Комисија за преглед и оцену докторске дисертације у саставу:

др Есма Исеновић, научни саветник, Универзитет у Београду-Институт за нуклеарне науке "Винча", редовни професор Универзитет привредна академија у Новом Саду, Стоматолошки факултет Панчево;
др Јелена Ђорђевић, редовни професор, Универзитет у Београду-Биолошки факултет;
др Едита Стокић, редовни професор, Универзитет у Новом Саду-Медицински факултет.

Комисија је прегледала урађену докторску дисертацију кандидата и Већу подноси следећи

ИЗВЕШТАЈ

Општи подаци о докторској дисертацији:

Докторска дисертација мр Сање С. Соскић, под насловом "Асоцијација промена антропометријских и метаболичких параметара и активности ензима антиоксидативне заштите са полиморфизмом LEP G-2548A у гену за лептин код гојазних особа у Србији", урађена је на Институту за нуклеарне науке „Винча“ у Београду у оквиру пројекта под бројем 173030, финансираног од стране Министарства просвете, науке и технолошког развоја, Републике Србије.

Теза је написана на 130 страна куцаног текста. Дисертација је подељена у уобичајена поглавља: увод (37 страна), хипотеза рада (1 страна), циљеви рада (1 страна), материјал и методе (20 страна), резултати (24 страна), дискусија (17 страна), закључци (2 стране) и попис коришћене литературе (28 страна). Дисертација укључује 23 слике, 7 табела и 31 графикана. У дисертацији је цитирано 318 библиографских јединица.

Полазне основе истраживања обухваћених овом тезом:

Гојазност поприма размере епидемије и једна је од најчешћих хроничних, незаразних болести, како у свету, тако и код нас. У Србији је један од важнијих здравствених проблема са учесталошћу до 54%, а у Војводини чак до 58%. Повећање телесне масе може довести до бројних метаболичких поремећаја, као што су резистенција на инсулин (ИР), атерогена дислипидемија и хипертензија. Такође, гојазност је битан фактор ризика за настанак кардиоваскуларних болести (КВБ), као што су болести коронарних и церебралних крвних судова, мождани удар, инфаркт миокарда, а које су водећи узрок смрти у свету. Познато је да бело масно ткиво служи као складиште енергије, али су секреторни производи овог ткива укључени у комплексну патогенезу метаболичких поремећаја повезаних са гојазношћу. Бело масно ткиво ствара велики број различитих биоактивних пептида познатих као адипоцитокени, у које спада и лептин. Код гојазних пацијената је показано повишење нивоа лептина. Сигнални пут лептина се укршта са сигналним путем инсулина, и они заједно утичу на регулацију апетита, унос хране и потрошњу енергије. Данашња изучавања гена за лептин (*LEP*) су усмерена на тражење генетичких варијанти, потенцијално повезаних са патофизиологијом гојазности, дијабетесом, као и компликацијама удруженим са овим патолошким стањима. Супституција G у A на нуклеотиду -2548 узводно од старт кодона ATG у промотору гена за лептин (*LEP G-2548A*) је генетичка варијанта асоцирана са повећаним стварањем и секрецијом лептина. Међутим, различите популационе студије ове генетичке варијанте показују контрадикторне резултате.

Познато је из литературе да у стању гојазности, као и многим другим патофизиолошким стањима, долази до повећања реактивних врста кисеоника и азота. Скорија сазнања о обнављању поремећене активности антиоксидативних ензима код об/об мишева указује на улогу лептина у модулацији активности ових ензима. Ензимска компонента антиоксидативног система (АОС) чини прву линију антиоксидативне заштите и то су: супероксид дисмутаза (SOD), каталаза (CAT), глутатион пероксидаза (GPx), глутатион редуктаза (GR) итд., док је неензимска компонента секундарна линија одбране и чине је витамини Е и Це, β-каротени, тиолова једињења итд.

С обзиром на чињеницу да је концентрација лептина значајно повећана код гојазних особа и да је повећање пропорционално телесној маси, актуелно је изучавање асоцијације варијанте у гену за лептин са антропометријским и метаболичким параметрима. Иако генетичке варијанте лептина могу бити важне у патофизиологији хумане гојазности и њених компликација, асоцијација генетичке варијанте *LEP G-2548A* са антропометријским и метаболичким параметрима у стању гојазности није у потпуности објашњена и, до сада, није изучавана у популацији Србије.

Анализа докторске дисертације:

Докторска дисертација кандидата **мр Сање Соскић**, обухвата уобичајена поглавља. У првом поглављу **УВОД** (37 страна) указано је на значај истраживања гојазности. Прегледно су изложени дефиниција и настанак гојазности, дијагностиковање гојазности мерењем антропометријских параметара, епидемиологија, типови и подтипови гојазности, као и морбидитетне и морталитетне карактеристике гојазности. Кандидат је оквиру овог поглавља истакао и значај поремећаја метаболизма глукозе, липида и

липопротеина у стању гојазности. Као значајни параметри метаболизма глукозе означени су: концентрација глукозе, инсулина, гликозилизованог хемоглобина (HbA_{1c}), индекси резистенције на инсулин пре (НОМА-IR) и 2 сата после јела (2h НОМА-IR), а као значајни параметри метаболизма липида и липопротеина: концентрација укупног холестерола (ТХ), триглицерида (ТГ), липопротеина велике густине (ХДЛ), липопротеина мале густине (ЛДЛ), аполипопротеина-АI (Апо-АI), аполипопротеина Б (АпоБ) и липопротеина (а) (Лп(а)), нивоа слободних масних киселина (СМК) у циркулацији, као и односа ЛДЛ/ХДЛ.

Такође је јасно указано и на значајну улогу хормона лептина, као једног од веома битних регулатора енергетске хомеостазе у стању гојазности. Систематично су приказане опште особине лептина, регулација његове секреције и транспорта, као и улога у регулацији енергетског баланса. Истакнут је значај резистенције на лептин, селективне резистенције на лептин, као и њихове могуће молекуларне механизме који још нису до краја разјашњени. Кандидат се осврнуо и на сигналне путеве лептина, као што су ЈАК-СТАТ сигнални пут који је детаљно описан, као и PI-3K и MAPK/ERK сигналне каскаде. Активација сваког од ових сигналних путева доприноси анорексигеним ефектима лептина, тј супримирању апетита, подстицању губитка телесне масе и повећању термогенезе. Осим тога, стављен је акценат на структуру хуманог гена за лептин, генетичку варијанту LEP G-2548A у гену за лептин, као и повезаност генетичке варијанте LEP G-2548A са гојазношћу.

Кандидат је истакао и значај оксидативног стреса у стању гојазности и антиоксидативног система (АОС), са акцентом на ензимску компоненту будући да је у оквиру ове докторске дисертације одређивана и активност ензима АОС.

У уводном делу су конципиране полазне основе на које ће се аутор ослањати у дискусији сопствених резултата, поткрепљене са шест илустрација.

У поглављу **ХИПОТЕЗА** (1 страна), кандидат излаже полазну хипотезу да би генетичка варијанта LEP G -2548A у гену за лептин могла бити повезана са променама у антропометријским и метаболичким параметрима услед поремећаја уноса хране. С обзиром да је познато да је стање гојазности праћено повећањем реактивних врста кисеоника и азота, у оквиру ове докторске дисертације анализирани су и асоцијације промена активности ензима АОС са генетичком варијантом LEP G -2548A у гену за лептин код гојазних испитаника у Србији.

У поглављу **ЦИЉЕВИ РАДА** (1 страна) аутор на јасан и концизан начин излаже циљеве рада који обухватају:

1. Изучавање промена метаболичких (концентрација ТГ, ЛДЛ, ХДЛ, СМК, АпоА-I, АпоБ, лептина, глукозе и инсулина пре и 2 сата након оброка) и антропометријских параметара, као и активности ензима АОС код гојазних и контролних испитаника независно од генетичке варијанте LEP G -2548A у гену за лептин;
2. Генотипизација варијанте LEP G -2548A у гену за лептин код гојазних и контролних испитаника;
3. Поређење утврђене фреквенције генотипова и алела испитиване генетичке варијанте код гојазних и контролних испитаника;
4. Утврђивање постојања асоцијација генетичке варијанте LEP G -2548A у гену за лептин са променама у испитиваним антропометријским и метаболичким параметрима, као и активности ензима АОС код гојазних и контролних испитаника.

У следећем поглављу **МАТЕРИЈАЛ И МЕТОДЕ** (20 страна) описани су гојазни и контролни испитаници који су учествовали у студији. Испитивану групу чинило је укупно 67 особа оба пола, подељених у две групе: контролну и гојазну. Контролну групу чинило је 36 нормално ухрањених особа оба пола (18 особа мушког и 18 особа женског пола), док је групу гојазних испитаника чинио 31 испитаник оба пола (10 особа мушког и 21 особа женског пола). Истраживање је одобрено од стране Етичког комитета Института за нуклеарне науке "Винча", Београд.

Описане су спектрофотометријске методе коришћене за одређивање концентрације глукозе у серуму, СМК, нитрата и нитрита у серуму, концентрације 4-ХНЕ, као и активности ензима АОС (укупне SOD, CAT, GPx, GR). ELISA метода је коришћена за одређивање концентрације лептина и инсулина у серуму, имунотурбидиметријски тест за одређивање концентрације АпоА-I и АпоБ, као и за одређивање концентрације Це-реактивног протеина (CRP) у серуму. Стандардизованом методом ензимског бојења одређивана је концентрација ТХ и ТГ у серуму, док је концентрација ХДЛ одређивана методом преципитације коришћењем натријумфосфоволфрамата. Први корак у анализи генетичке варијанте гена за лептин био је изолација ДНК из пуне крви испитаника применом фенол-хлороформске методе, након чега је следила амплификација фрагмената ДНК и рестрикциона анализа синтетисаних фрагмената ДНК. Генетичка варијанта LEP G-2548A у гену за лептин је анализирана ланчаном реакцијом полимеразе (PCR) и анализом дужина ДНК фрагмената након дигестије одговарајућим рестрикционим ензимом (RFLP). Провера синтезе и величине ДНК фрагмената гена за лептин рађена је електрофорезом на агарозном гелу. Генотипизација варијанте LEP G-2548A у гену за лептин одређивана је после бојења полиакриламидних гелова сребром.

На крају су представљене статистичке методе (Studentov *t*-test, Mann-Whitney U test, χ^2 -test, ANOVA, LSD Post Hoc test, Kruskal-Wallis ANOVA test) коришћене при обради добијених резултата.

Поглавље садржи једну слику и четири табеле.

Поглавље **РЕЗУЛТАТИ** (24 стране) подељено је у шест целина и документовано са три табеле и 16 слика, на којима је приказан 31 графикон.

У првој целини су приказани резултати добијени из демографских података контролних и гојазних испитаника. Резултати показују да се однос полова није статистички значајно разликовао између ове две групе испитаника. Друга целина се односи на приказ резултата антропометријских параметара контролних и гојазних испитаника. Приказани су резултати мерења телесне масе (BW), обима струка (WC) и индекса телесне масе (BMI). Добијени резултати су показали статистички значајно веће вредности BW, WC и BMI код гојазних испитаника у односу на контролне.

Трећа целина приказује резултате одређивања фактора ризика и развоја компликација гојазности. Прво су приказани резултати мерења систолног (SBP) и дијастолног (DBP) крвног притиска, који показују статистички значајно повећање ових вредности у групи гојазних испитаника у поређењу са контролним. Следећи резултати односили су се на мерење параметара метаболизма глукозе у обе испитиване групе. Резултати мерења концентрације глукозе у крви пре и 2 сата након доручка нису показали статистички значајне разлике код контролних и гојазних испитаника. Међутим, ниво ХБА_{1с} био је значајно виши код гојазних испитаника у односу на контролне, као и ниво

инсулина пре и после доручка и индекси резистенције на инсулин (НОМА-IR и 2 сата НОМА-IR). Резултати одређивања концентрације лептина у серуму показују да су код гојазних испитаника вредности лептина у серуму значајно повећане у односу на контролне. Приказани резултати добијени мерењем маркера инфламације показују да је концентрација азот монооксида (NO) као и CRP значајно повећана у крви гојазних испитаника у односу на контролне.

Четврта целина се односи на приказ резултата мерења параметара липидног профила контролних и гојазних испитаника. Установљене су статистички значајно више вредности за следеће параметре: ЛДЛ, ТГ, однос ХДЛ/ЛДЛ, АпоБ и СМК код гојазних испитаника, док је концентрација ХДЛ и Апо-АI била статистички значајно нижа у поређењу са контролном групом. Није уочена статистички значајна разлика у вредностима ТХ и Лп(а) у крви контролних и гојазних испитаника.

Пета целина се односи на приказ резултата мерења параметара оксидативног стреса код контролних и гојазних испитаника. Добијени резултати показују да је ниво маркера липидне пероксидације 4-ХНЕ код гојазних испитаника био статистички значајно виши у односу на контроле. Први параметар антиоксидативне заштите који је кандидат одређивао био је укупни антиоксидативни статус (ТАС) и добијени резултат показује да је његов ниво код гојазних испитаника статистички био значајно смањен у поређењу са контролним. Такође су приказани резултати мерења активности ензима АОС који показују да су код гојазних испитаника активности ензима укупне SOD, GPx и GR статистички значајно смањене у односу на исте код контролних, али да није уочена статистички значајна промена активности САТ између две испитиване групе.

Шеста целина приказује резултате асоцијације промена свих претходно поменутих параметара са генетичком варијантом LEP G-2548A у гену за лептин. Први резултати у овој целини показују да у дистрибуцији испитиваних алела и генотипова варијанте LEP G-2548A између гојазних и контролних испитаника нема статистички значајних разлика. Коришћењем кодоминантног модела показано је да нема значајне асоцијације промене антропометријских параметара (телесна маса, обим струка, BMI) са генотиповима варијанте G-2548A у гену за лептин код контролних и гојазних испитаника. Резултати који су добијени након примене доминантног модела показују постојање значајних асоцијација промене антропометријских параметара (телесна маса, обим струка и индекс телесне масе) са генотиповима варијанте G-2548A у гену за лептин код контролних испитаника. Код контролних испитаника носилаца хетерозигота GA и носилаца хомозигота AA показана је статистички значајно мања телесна маса, обим струка и индекс телесне масе у поређењу са контролним испитаницима носиоцима хомозигота GG по доминантном моделу. Није уочена асоцијација промене концентрације лептина, глукозе и инсулина у крви пре и 2 сата после доручка, гликозилованог хемоглобина, индекса резистенције на инсулин, концентрације CRP, као и вредности SBP и DBP са генотиповима варијанте G-2548A у гену за лептин код контролних и гојазних испитаника након анализе по кодоминантном и доминантном моделу. Приказани резултати анализе по доминантном моделу показују да је концентрација NO у плазми код контролних испитаника носилаца хетерозигота GA и носилаца хомозигота AA била статистички значајно већа у поређењу са контролним испитаницима носиоцима хомозигота GG. Резултати добијени по кодоминантном и рецесивном моделу показују да гојазни испитаници носиоци хомозигота мање учесталог алела A генетичке варијанте LEP G-2548A имају статистички значајно мање вредности

ЛДЛ у поређењу са гојазним испитаницима носиоцима хомозигота GG односно носиоцима хетерозигота GA. Резултат добијен по кодоминантном моделу показује да гојазни испитаници носиоци хомозигота AA генетичке варијанте LEP G-2548A имају статистички значајно мање вредности АпоБ у поређењу са гојазним испитаницима носиоцима хетерозигота GA. Резултати анализе по оба модела показују да није уочена асоцијација промене односа ЛДЛ/ХДЛ и промене концентрације ХДЛ, ТХ, ТГ, СМК, Апо-АI и Лп(а) са генотиповима варијанте G-2548A у гену за лептин како код контролних, тако и код гојазних испитаника. На крају, приказани резултати показују да није уочена статистички значајна асоцијација промене индикатора липидне пероксидације 4-ХНЕ, активности ни једног од испитиваних ензима АОС, као ни ТАС са генотиповима варијанте G-2548A у гену за лептин по кодоминантном и доминантном моделу код контролних и гојазних испитаника.

У поглављу **ДИСКУСИЈА** (17 страна) студиозно и критички су размотрени добијени резултати. Кандидат је дискусију резултата почео систематски, полазећи од резултата добијених мерењем антропометријских параметара гојазних и контролних испитаника. Резултати показују да су телесна маса, индекс телесне масе и обим струка значајно повећани код гојазних у односу на контролне испитанике што је било очекивано и у складу је са резултатима других студија. На основу добијених резултата гојазни испитаници у овој докторској дисертацији су окарактерисани као екстремно гојазни, са повећаним ризиком за развој метаболичких компликација. Измерене вредности систолног и дијастолног крвног притиска указале су на разлику у групи гојазних у поређењу са вредностима добијеним за контролне испитанике, што указује на присуство фактора ризика за развој хипертензије код гојазних особа.

Резултати повећаног нивоа лептина код гојазних испитаника, такође су били очекивани и у складу са резултатима других студија. Више вредности нивоа лептина у крви гојазних испитаника у овој студији аутор дискутује у контексту везе која постоји између повећања телесне масе, односно величине адипоцита и експресије лептина.

Затим су дискутовани резултати мерења параметара метаболизма глукозе гојазних испитаника. У овој студији није уочено статистички значајно повећање концентрације глукозе пре и после доручка код гојазних испитаника у односу на контролне, али је показано повећање концентрације инсулина пре првог јутарњег оброка и 2 сата након њега, као и концентрације гликозилованог хемоглобина (HbA_{1c}) у крви гојазних испитаника. Резултати значајног повећања обе вредности концентрације инсулина у складу су са резултатима других студија. Повећани ниво инсулина аутор објашњава његовом повећаном синтезом, као и смањеним "клиренсом", углавном од стране јетре. Резултати мерења HbA_{1c} указују на хипергликемични тренд током 120 дана, колики је животни век еритроцита. Такође, аутор указује и на литературне податке који показују постојање позитивне корелације HbA_{1c} и вредности ВМI код гојазних. На основу добијених резултата аутор закључује да је висок ниво HbA_{1c} у директној вези са повећаним ризиком за развој дијабетеса и његових пратећих компликација код гојазних испитаника. Очекивано виши ниво НОМА-IR код гојазних испитаника додатно потврђује и постојање резистенције на инсулин.

Аутор се затим осврнуо на резултате одређивања параметара метаболизма липида и липопротеина код гојазних и контролних испитаника. Добијени и приказани резултати

показују значајно повећање концентрације ЛДЛ и ТГ, а смањење нивоа ХДЛ у крви гојазних испитаника, што се у литератури назива атерогена дислипидемија. Добијени резултати су очекивани и у сагласности су са резултатима других аутора. Повећане концентрације ЛДЛ и ТГ у групи гојазних испитаника аутор доводи у везу са стањем ИР, која је установљена гојазним испитаницима на основу НОМА-IR индекса. Познато је да је једна од последица ИР поремећај метаболизма липида и липопротеина, и да ИР може проузроковати настанак хипертриглицеридемије. Непромењен ниво укупног холестерола у крви гојазних испитаника вероватно је последица прерасподеле холестерола пореклом из ХДЛ и ЛДЛ честица и то у корист ЛДЛ честица. Аутор наглашава да повећани однос ЛДЛ/ХДЛ тј. атеросклеротски индекс у комбинацији са повишеним нивоом ТГ повећава ризик настанка коронарних болести срца код гојазних. Атерогену дислипидемију прати и повишена концентрација АпоБ и снижена концентрација Апо-А, што такође указује на повећан ризик настанка атеросклерозе и кардиоваскуларних обољења код гојазних. Значајно повећање СМК у крви гојазних испитаника ове студије аутор објашњава повећањем масе масног ткива које ослобађа више СМК, као и смањеним "клиренсом" СМК. Осим тога, повећање нивоа СМК инхибира антилиполитичко дејство инсулина, што даље повећава ослобађање СМК у циркулацију и може узроковати настанак ИР. Механизми којима СМК могу довести до настанка ИР још нису у потпуности познати, али се претпоставља да укључују генерисање липидних метаболита, проинфламаторних цитокина, оксидативни стрес итд.

Надаље су дискутовани резултати повећаног нивоа NO и CRP као маркера инфламације гојазних испитаника. Повећање концентрације CRP је очекивано и подржано литературним подацима, који указују на повезаност између увећане масне масе и повишеног нивоа маркера инфламације. Тако је ниво CRP у циркулацији у позитивној корелацији са вредностима ВМI. Аутор повећање нивоа CRP доводи у везу са повећаним ослобађањем проинфламаторних цитокина (као што је интерлеукин 6, IL-6), из висцералног масног ткива гојазних особа, који може да доведе до повећане синтезе CRP. Такође, аутор указује и на литературне податке који показују да лептин директно утиче на повећање експресије CRP, али и индиректно преко дејства на IL-6. Повећана концентрација IL-6, доводи и до повећања синтезе и активности индуцибилне азот моноксид синтазе (iNOS) и следственог ослобађања NO у циркулацију. Осим тога, експресија iNOS је већа у висцералном масном ткиву, за које је утврђено да је повећано код гојазних испитаника ове студије на основу резултата вредности обима струка.

У следећем одељку су анализирани резултати добијени одређивањем 4-ХНЕ, продукта липидне пероксидације, као и параметара антиоксидативне заштите тј. активности АОС ензима и укупног антиоксидативног статуса (ТАС) код гојазних и контролних испитаника. Регистрован повећан ниво 4-ХНЕ у крви гојазних испитаника указује на повећање липидне пероксидације, које аутор објашњава на неколико начина. Гојазност представља метаболичко оптерећење за срце, што доводи до повећања потрошње кисеоника и стварања реактивних врста кисеоника (РОС), које узрокују липидну пероксидацију. Осим тога, механичко оптерећење масним ткивом око срца може довести до повреде кардиомиоцита и ослобађања цитокина, који доводе до стварања РОС. Такође, исхрана богата мастима може бити укључена у метаболизам кисеоника, јер су двоструке ковалентне везе у молекулима СМК подложне оксидацији.

Резултати ове докторске дисертације су показали значајно смањење активности ензима SOD, GR и GPx у серуму гојазних испитаника, као и TAC, што је у складу са бројним студијама. Међутим, литературни подаци су контрадикторни, што аутор објашњава различитом дужином трајања гојазности, као и самог степена гојазности. Тачније, у почетним фазама стања гојазности активност ензима AOC може бити повећана, али са повећањем периода трајања гојазности активност ензима AOC се смањују. Такође, аутор исте резултате доводи у везу са уоченом дислипидемијом, која доводи до смањене активности SOD, GR и GPx у крви гојазних испитаника ове студије.

У последњој целини су дискутовани резултати добијени анализом асоцијације промене антропометријских и метаболичких параметара, као и стања AOC са генетичком варијантом LEP G-2548A у гену за лептин. Резултати добијени за дистрибуцију генотипова приказани у овој докторској дисертацији су слични резултатима саопштеним у генетичким популационим студијама спроведеним у Грчкој, Француској и Пољској. Учесталост алела G за генетичку варијанту G-2548A у гену за лептин била је већа код гојазних испитаника у односу на контролне, што је слично резултатима добијеним за гојазне испитанике Румуније. Није уочена значајна разлика у дистрибуцији генотипова и фреквенцији алела генетичке варијанте G-2548A у гену за лептин између гојазних и контролних испитаника, што је такође у складу са резултатима добијеним у румунској генетичкој популационој студији.

Резултати добијени након статистичке анализе по доминантном моделу показују асоцијацију телесне масе, обима струка и индекса телесне масе код контролних испитаника са генотиповима дате генетичке варијанте у гену за лептин. Код контролних испитаника носилаца генотипова GA и AA утврђена је значајна асоцијација са мањом телесном масом, обимом струка и индексом телесне масе у односу на контролне испитанике носиоце генотипа GG, што аутор објашњава тиме да контролни испитаници носиоци алела A било у хетерозиготном или хомозиготном облику имају мањи ризик развоја гојазности у односу на носиоце хомозигота GG. Изучавање асоцијације генетичке варијанте G-2548A у гену за лептин са BMI спроведено код гојазних испитаника Француске, Бразила, као и тајванских Аборигина потврдила су асоцијацију генетичке варијанте G-2548A у гену за лептин са повећаним BMI. Литературни подаци који се односе на резултате објављених студија других аутора показују да су резултати асоцијације генетичке варијанте G -2548A у гену за лептин са гојазношћу или BMI контрадикторни што се може довести у везу са појавом неслучајне асоцијације алела генетичке варијанте G -2548A, која се не налази у конзервираном региону гена за лептин, са другом функционалном генетичком варијантом која би могла утицати на фенотип.

Установљено повећање концентрације лептина код гојазних испитаника ове студије у односу на контролне, није асоцирано са генетичком варијантом G-2548A у гену за лептин, што је у супротности са студијом рађеној на популацији бразилских жена, која је показала постојање асоцијације. Као разлоге неслагања са резултатима ове и других студија, аутор наводи могуће популационе разлике, разлике у броју испитаника или различитог дизајна студија. Такође није установљено постојање асоцијације параметара метаболизма глукозе са генотиповима варијанте G-2548A у гену за лептин, ни код једне групе испитаника ове студије. Међутим, код гојазних испитаника носилаца генотипа AA варијанте LEP G-2548A утврђена је асоцијација са нижим нивоом ЛДЛ и АпоБ у поређењу са гојазним испитаницима носиоцима генотипова GA и GG.

Резултати статистичке анализе по доминантном моделу показали су постојање асоцијације повећања концентрације NO у плазми контролних испитаника са генотиповима дате генетичке варијанте у гену за лептин. Код контролних испитаника носилаца генотипова GA и AA утврђена је значајна асоцијација са већом концентрацијом NO у односу на контролне испитанике носиоце генотипа GG. Уочена асоцијација указује да су контролни испитаници носиоци алела G у хомозиготном облику заштићенији од инфламације у односу на контролне испитанике носиоце хетерозигота GA и хомозигота AA, али да се у стању гојазности губи протективно дејство алела G.

Није установљена асоцијација испитиваних индикатора оксидативног стреса са генотиповима варијанте G-2548A у гену за лептин код контролних и гојазних испитаника.

На крају аутор истиче да су ово су прва истраживања асоцијације генетичке варијанте G-2548A у гену за лептин са антропометријским и метаболичким параметрима, као и активности ензима антиоксидативне заштите у популацији гојазних особа у Србији.

У поглављу **ЗАКЉУЧЦИ** (2 стране) изнет је низ закључака који у потпуности произлазе из добијених резултата, а одговарају на циљеве ове докторске дисертације.

На основу претходно дискутованих резултата кандидат је закључио да је показано постојање асоцијације генетичке варијанте G-2548A у гену за лептин са антропометријским параметрима (телесна маса, обим струка и индекс телесне масе) и маркером инфламације (азот моноксид) код контролних испитаника, као и са неким од испитиваних метаболичких параметара (ЛДЛ и аполипопротеин Б) код гојазних испитаника. Међутим, није установљена асоцијација промене активности ензима антиоксидативне заштите са генотиповима варијанте G-2548A у гену за лептин код контролних и гојазних испитаника Србије. Имајући у виду мали број испитаника који су били укључени у овој студији, аутор истиче да је неопходно дизајнирати будуће студије са већим бројем испитаника како би се разјаснила улога генетичких варијанти у гену за лептин са гојазношћу и пратећим коморбидитетима гојазности у српској популацији.

Поглавље **ЛИТЕРАТУРА** садржи списак 318 цитираних библиографских јединица. Обимно и адекватно коришћење литературних навода као и релевантност њиховог избора у потпуности одражава проблематику ове дисертације и указује на студиозан приступ аутора.

Радови и конгресна саопштења из докторске дисертације:

Б1. Радови у часописима међународног значаја

М23 категорија

1. **Sanja Soskic**, Edita Stokic, Milan Obradovic, Emina Sudar, Aleksandar Kupusinac, Nasta Tanic, Jelena Djordjevic, Esma R. Isenovic. *Association of leptin gene polymorphism G-2548A with metabolic and anthropometric parameters in obese patients in Serbian population: pilot study*. Clinical lipidology, 2014; 9(5): 505-513.

Б2. Радови у часописима домаћег значаја

М53 категорија

1. **Sanja Soskić**, Anastasija Panić, Esma R. Isenović. *Efekti gojaznosti na nastanak kardiovaskularnih poremećaja*. Medicinska istraživanja, 2015; 9(2): 33-35.

2. Anastasija Panić, **Sanja Soskić**, Esma R. Isenović. *Leptin i mehanizam delovanja leptina*. Medicinska istraživanja, 2015; 9(2): 36-41.

Б3. Конгресна саопштења на скуповима међународног значаја

М34 категорија

1. **Sanja Soskić**, Edita Stokić, Milan Obradović, Sonja Zafirović, Emina Sudar, Aleksandra Jovanović, Esma R. Isenović. *Uticaj gojaznosti na nivo lipida i nivo slobodnih masnih kiselina*. Treći kongres o hiperlipoproteinemijama Srbije sa međunarodnim učešćem, 03.-04. oktobar 2013., Novi Sad

Мишљење и предлог Комисије:

Комисија сматра да је докторска дисертација **мр Сање Соскић** написана у складу са образложењем наведеним у пријави теме и да садржи све релевантне елементе неопходне за овакву врсту рада. Резултати истраживања у оквиру ове дисертације дају јаснију слику о молекуларно генетичкој основи гојазности на нивоу хумане популације. Ова дисертација представља оригинални истраживачки допринос проучавању будући да су по први пут урађена изучавања асоцијације генетичке варијанте LEP G-2548A у гену за лептин са променама антропометријских и метаболичких параметара, као и активности антиоксидативних ензима код гојазних испитаника у српској популацији.

Имајући у виду све напред наведено, као и да је део резултата поменутих истраживања инкорпориран у публикацију међународног значаја, Комисија предлаже Наставно-научном већу Биолошког факултета Универзитета у Београду да прихвати овај извештај и одобри **мр Сањи Соскић** јавну одбрану докторске дисертације под насловом "**Асоцијација промена антропометријских и метаболичких параметара и активности ензима антиоксидативне заштите са полиморфизмом LEP G-2548A у гену за лептин код гојазних особа у Србији**".

КОМИСИЈА:

др Есма Исеновић, научни саветник
Универзитет у Београду-Институт за нуклеарне науке "Винча",
редовни професор, Универзитет привредна академија у Новом Саду,
Стоматолошког факултета Панчево

др Јелена Ђорђевић, редовни професор
Универзитет у Београду-Биолошки факултет

др Едита Стокић, редовни професор
Универзитет у Новом Саду-Медицински факултет