

**НАСТАВНО НАУЧНОМ ВЕЋУ МЕДИЦИНСКОГ ФАКУЛТЕТА
УНИВЕРЗИТЕТА У БЕОГРАДУ**

На седници **Наставно-научног већа** Медицинског факултета у Београду, одржаној дана 12.11.2024. године, број 19/I-4/3-ММ, именована је комисија за оцену завршене докторске дисертације под насловом:

**„УТИЦАЈ ПРИМЕНЕ СИНБИОТИКА НА ПРОДУКЦИЈУ УРЕМИЈСКИХ
ТОКСИНА, НИВО ИНФЛАМАЦИЈЕ И САСТАВ ЦРЕВНОГ МИКРОБИОМА КОД
БОЛЕСНИКА СА ХРОНИЧНОМ БУБРЕЖНОМ СЛАБОШЋУ“**

кандидата др Милоша Митровића, запосленог на Клиничком одељењу гастроентерологије и хепатологије Клиничко болничког центра Звездара у Београду.

Име и презиме ментора	Звање	Научна област	Установа у којој је запослен
др Верица Станковић Поповић	Доцент	Нефрологија	МФУБ
др Петар Сворцан	Професор	Гастроентерологија	МФУБ

Комисија за оцену завршене докторске дисертације именована је у саставу:

Име и презиме члана комисије	Звање	Научна област	Установа у којој је запослен
др Александра Кезић	Професор	Нефрологија	МФУБ
др Татјана Дамјановић	Доцент	Нефрологија	МФУБ
др Бранка Митић	Професор	Нефрологија	МФ Ниш

На основу анализе приложене докторске дисертације, комисија за оцену завршене докторске дисертације једногласно подноси Научном већу Медицинског факултета следећи

ИЗВЕШТАЈ

А) Приказ садржаја докторске дисертације

Докторска дисертација др Милош Митровића написана је на укупно 53 страна и подељена је на следећа поглавља: увод, циљеви рада, материјал и методе, резултати, дискусија, закључци и литература. У дисертацији се налази укупно 10 табела, и 9 слика. Докторска дисертација садржи сажетак на српском и енглеском језику, биографију кандидата, податке о комисији.

У **уводу** је дефинисано шта је то микробиом и које су његове основне функције у људском организму, те како промене у саставу микробиома могу имати утицај на

одређена патолошка стања попут кардиоваскуларних догађаја и бубрежне слабости. Уводом је указано да је дигестивни тракт са цревним микробиомом централно место продукције уремијских токсина, специфично *p-cresyl-sulfate-a (PCS)* *indoxyl-sulfate-a (IS)*, те *trimetilamino-N-oxide-a (ТМАО)*, чији ниво директно корелише са склоношћу развоја кардиоваскуларних патолошких стања али и прогресијом бубрежне слабости. Представљене су досадашње стратегије које су за циљ имале њихово снижавање. Представљене је потенцијал синбиотске терапије, те представљене судије које су за циљ имале да испитају ефикасност и безбедност ове терапије. Указано је на могуће мањкавости студија, које би будућом студијом требало превазићи.

Циљеви рада су прецизно дефинисани. Састоје се од испитивања ефикасности синбиотске терапије на ниво уремијских токсина- *IS*, *PCS*, *ТМАО*, њене безбедности, утицаја на састав цревног микробиома, ниво запаљенских маркера, бубрежне функције, заступљеност гастроинтестиналних симптома као и ниво стеатозе јетре.

У поглављу **материјал и методе** је наведено да се ради о двоструко-слепој плацебо-контролисаној, проспективној студији, које је спроведена у оквиру Клиничког одељења за нефологију са дијализом КБЦ Звездара, у складу са одредбама Хелсиншке декларације, уз поштовање етичких принципа Етичког комитета КБЦ Звездара и Медицинског факултета. Детаљно је описан начин интервјуисања пацијената, добијања информисаног пристанка, критеријуми за укључење у студију, као и могући искључујући критеријуми. Детаљно је описан начин анализирања нивоа уремијских токсина, као и начин анализе састава цревног микробиома.

У поглављу **резултати** детаљно су описани и јасно представљени сви добијени резултати.

Дискусија је написана јасно и прегледно, уз приказ података других истраживања са упоредним прегледом добијених резултата докторске дисертације.

Закључци сажето приказују најважније налазе који су проистекли из резултата рада. Коришћена **литература** садржи списак од 159 референци.

Б) Провера оригиналности докторске дисертације

На основу Правилника о поступку провере оригиналности докторских дисертација које се бране на Универзитету у Београду и налаза у извештају из Програма *iThenticate* којим је извршена провера оригиналности докторске дисертације “Утицај примене синбиотика на продукцију уремијских токсина, ниво инфламације и састав цревног микробиома код испитаника са хроничном бубрежном слабошћу” аутора Милоша Митровића, констатујем да утврђено подударане текста износи 7% и да је то доминантно последица претходно публикованих докторандових истраживања, као и општих места и података, те у складу са чланом 9. Правилника. На основу свега наведеног, а у складу са чланом 8. Став 2. Правилника о поступку провере оригиналности докторских дисертација које се бране на Универзитету у Београду, извештај указује на оригиналност докторске дисертације, те се прописани поступак припреме за њену одбрану може наставити.

Ц) Кратак опис постигнутих резултата

Студија је спроведена од октобра 2019. до фебруара 2022. Након иницијалног интервјуа са 146 пацијената, 100 је испунило све критеријуме за укључивање и искључивање и дало информисани пристанак за учешће. Подељени су у две групе- групу третирану синбиотиком (49 пацијената) и контролну групу третирану плацебом (51 пацијент). Третман синбиотиком подразумевао је примену укупно 64 милијарди *CFU (colony forming unit) Lactobacillus acidophilus CBT LA1* (16×10^9 CFU), *Lactobacillus casei CBT LC5* (16×10^9 CFU) и *Bifidobacterium lactis CBT BL3* (32×10^9 CFU) уз 6.4g инулина, подељених у две дозе- капсуле. Испитаници контролне групе третирану су идентичним бројем и изгледом капсула али са укупно 6.8 g биоинертног малтодекстрина. Финална анализа обухватила је 41 испитаника групе третиране синбиотиком и 43 из контролне групе након искључивања пацијента који нису испунили услове протокола студије. Нису уочене статистички значајне разлике у демографским карактеристикама попут пола, старосне дистрибуције, коморбидитета, индекса телесне масе (*BMI*), претходне терапије, процењене гломеруларне филтрације (*eGFR*) или серумских електролита између група.

Примена синбиотика значајно је снизила ниво уремијских токсина (*IS* за око 11% и *PCS* за 6%) у поређењу са плацебом. Ефекат на ниво *TMAO* није био статистички значајан између група. Третман синбиотиком довео је до значајног смањења нивоа високо-сензитивног *C*-реактивног протеина (*hsCRP*) у поређењу са ефектом плацеба (за око 29%). Статистички значајан ефекат терапије на ниво урее, ниво гломеруларне филтрације, калијума и албуминурије није уочен.

Примена синбиотика је значајно обогатила цревни микробиом третираних пацијената бактеријским родовима *Lactobacillus*-а, *Bifidobacterium*-а и *Faecalibacterium*-а за 81%, 55% и 40% респективно, док је остварена редукција родова *Ruminococcus*-а и *Enterobacterium*-а за 35% и 40%.

Осим једног пацијента, сви учесници су током иницијалног интервјуа пријавили бар једну гастроинтестиналну тегобу, најчешће констипацију (87%) и осећај тешког варења (76%). Примена синбиотика код учесника са затвором значајно је смањила учесталост (73%) и интензитет гастроинтестиналних симптома. Анализа цревног транзиционог периода показала је значајно скраћење у групи третираној синбиотиком у поређењу са контролном групом.

Два учесника контролне групе искључена су из терапијског протокола због започињања третмана хемодијализом услед изражене хиперволемије која није реаговала на диуретике. Осим појачаног надимања код два учесника групе третиране синбиотиком, није било других нежељених догађаја током студије.

Након 12 недеља од завршетка терапијског периода, уз одржавање дијете и физичке активности предвиђене студијским протоколом, обављена је контролна анализа нивоа уремијских токсина у обе групе. Нивои уремијских токсина су се приближно вратили на почетни ниво на крају дванаестонедељног периода праћења након завршене терапије.

Д) Упоредна анализа докторске дисертације са резултатима из литературе

До сада је објављено 10 студија које су за циљ имале да испитају ефикасност примене пре-, про- или синбиотских препарата у популацији испитаника са хроничном бубрежном слабошћу. Од тога, само три студије су обављене на популацији болесника са гр III и IV бубрежне слабости, то јест код болесника код којих није започето лечење са методама вештачке замене бубрежне функције. Наша студија је најсличнија *SYNERGY* студији *Meghan Rossi* и сарадника, с обзиром на рандомизовани проспективни дизајн, строгу контролу примене антибиотика и дијете, саставу и дозирању пробиотских препарата и чињеници да је и ова студија испитивала ефекте терапије на састав микробиома. У складу са тим, и закључци наше студије се у великој мери слажу са закључцима ове студије, то јест у обе студије доказано је да примена синбиотског препарата доводи до статистички значајне редуције нивоа уремијских токсина *IS-a* и *PCS-a*. Налази наше студије су сагласни са закључцима студија обављених на популацији хемодијализних пацијената, студији *Nakabayashi-a* и *Guida-e* по питању редуције *pCresol-a*, сурогата *PCS-a*, те студијом *Lopes-a* по питању *IS-a* и *PCS-a*. Студија *Sirich-a* и сарадника показала је ефекте терапије на ниво *IS-a* али не и *PCS-a*, али треба истаћи да је терапија у овој студији превасходно базирана на примени пребиотских влакана, а не пробиотика. Са друге стране студија *Borges* и сарадника није показала значајан ефекат примене синбиотика у смислу редуције нивоа уремијских токсина, напротив, у популацији испитаника третираних синбиотиком уочен је статистички значајан пораст нивоа *IS-a*. Оно што разликује ову студију у односу на нашу је то да је она базирана на популацији хемодијализних пацијената, али се и састав пробиотских култура разликовао, пре свега у смислу примене пробиотика базираног на *Streptococcus thermophilus-y*. Такође је важно истаћи да је број испитаника третираних синбиотиком био значајно мањи, те се интервентна популација састојала од 11 пацијената. Три метанализе обухватиле су наведене студије и покушале да донесу закључке о ефектима ове форме терапије на ниво ИС и ПЦС (*McFarlane et al*, *Rossi et al*, *Jia et al*). Студија *McFarlane*, која је обухватила око 345 испитаника, истакла је велику хетерогеност обухваћених студија, те одсуство контроле придружених фактора, попут дијете, као велики проблем који онемогућава генерализацију закључака, али да се примећује мали али конзистентан ефекат терапије на ниво *IS-a* (*MD* -0.3 mmol/L) и *PCS-a* (*MD* -0.02 mg/dL). Метаанализа *Rossi* је детаљније издвојила студије које су процењивале ефекте синбиотика и то у популацији преддијализних пацијената са хроничном бубрежном слабошћу и истакла статистички значајан ефекат ове форме терапије на ниво *IS-a* (*MD* -6.4 mg/L), док је статистички значајан ефекат изостао када је у питању *PCS*. Последња у низу метанаализа, аутора *Jia* једина је обухватила и *SYNERGY* студију, те захваљујући томе донела и позитивне закључке о ефекту синбиотика на ниво серумског *PCS-a* (*MD*- 0.57 mg/dL).

У оквиру наше студије показали смо да је терапија синбиотиком утицала на статистички значајно смањење нивоа неспецифичног маркера инфламације *hsCRP-a*. Када је у питању испитивање ефекта терапије пробиотицима на ниво запаљенских маркера, три метаанализе су изнеле своје закључке о овој теми. Студија *Jia* и сарадника није изнела конкретне закључке због високе хетерогености налаза, али је истакла да постоји тенденција ка смањивању нивоа *hsCRP-a*. Студија *Zheng-a* је истакла да постоји бенефит терапије пробиотицима на ниво проинфламаторних маркера, али да је тај бенефит највећи ако у обзир узмемо популацију особа чији је *BMI* мањи од 26 кг/м². Ова студија је показала да је, када је у питању ефекат на проинфламаторне маркере, комбинација

пробиотских култура *Lactobacillus*-а и *Bifidobacterium*-а најпотентнија. Последња у низу, студија *Thongprayoon*-а, објављена 2019. године, обављена на популацији дијализних пацијената, истакла је недвосмислени ефекат пробиотске терапије на редукцију ниво *hsCRP*-а (*SMD* -0.42).

Наша студија је једна од само три студије које су за циљ имале испитивање утицаја примене синбиотику на састав микробиома столице код пацијената са хроничном бубрежном слабошћу. Уз то популација испитаника у нашој студији је значајно већа и од оне у студији *Cruz-Mora-e* (n=18) и *Rossi* (n=31). Слично закључцима ових студија, и наша студија показала је да је синбиотски препарат значајно обогатио цревни микробиом испитаника сојевима *Lactobacillus*-а и *Bifidobacterium*-а, али оно што издваја нашу студију је да је остварен и позитиван ефекат на *Faecalibacterium*. Оно што је узрок могуће разлике је што је нашом студијом строго исконтролисана дијета болесника и примена антибиотика и других пробиотских препарата.

Е) Објављени радови који чине део докторске дисертације

1. Mitrović M, Stanković-Popović V, Tolinački M, Golić N, Soković Bajić S, Veljović K, Nastasijević B, Soldatović I, Svorcan P, Dimković N. The Impact of Synbiotic Treatment on the Levels of Gut-Derived Uremic Toxins, Inflammation, and Gut Microbiome of Chronic Kidney Disease Patients-A Randomized Trial. *J Ren Nutr.* 2023 Mar;33(2):278-288. doi: 10.1053/j.jrn.2022.07.008. M22 IF 3.4
2. Mitrović M, Dobrosavljević A, Odanović O, Knežević-Ivanovski T, Kralj Đ, Erceg S, Perućica A, Svorcan P, Stanković-Popović V. The effects of synbiotics on the liver steatosis, inflammation, and gut microbiome of metabolic dysfunction-associated liver disease patients-randomized trial. *Rom J Intern Med.* 2024 Feb 7;62(2):184-193. doi: 10.2478/rjim-2024-0004. ESCI IF 1.6.
3. Mitrović M, Svorcan P, Stanković Popović V. Microbiome and its impact on cardiovascular and renal health. *Medicinski podmladak.* Doi: 10.5937/mp77-4830.

Ф) Закључак (образложење научног доприноса)

Докторска дисертација „Утицај примене синбиотика на продукцију уремијских токсина, ниво инфламације и састав цревног микробиома код болесника са хроничном бубрежном слабошћу“ др Милоша Митровића, као први овакав рад у нашој популацији даје оригинални научни допринос у разумевању улоге и значаја микробиома у настанку и прогресији бубрежне слабости. Показано је да синбиотска терапија може представљати важно комплементарно средство у лечењу болесника са хроничном бубрежном слабошћу, које може у условима континуиране примене у високим дозама, кроз модулацију цревног микробиома, допринети значајном смањењу уремијских токсина, нивоа неспецифичних маркера инфламације, стеатозе јетре, и тиме потенцијално утиче на кардиоваскуларно здравље.

Ова докторска дисертација је урађена према свим принципима научног истраживања. Циљеви су били прецизно дефинисани, научни приступ је био оригиналан и пажљиво изабран, а методологија рада је била савремена. Резултати су прегледно и систематично приказани и дискутовани, а из њих су изведени одговарајући закључци.

На основу свега наведеног, и имајући у виду досадашњи научни рад кандидата, комисија предлаже Научном већу Медицинског факултета Универзитета у Београду да прихвати докторску дисертацију др Милоша Митровића и одобри њену јавну одбрану ради стицања академске титуле доктора медицинских наука.

У Београду, 1.12.24.