



УНИВЕРЗИТЕТ У КРАГУЈЕВЦУ
ФАКУЛТЕТ МЕДИЦИНСКИХ НАУКА

Живанка И. Ђуровић

**Прогностички значај вредности
хомоцистеина, фолне киселине и витамина
В12 у крви оболелих од малигнух тумора
мозга**

докторска дисертација

Крагујевац, 2022. године



UNIVERZITET U KRAGUJEVCU
FAKULTET MEDICINSKIH NAUKA

Živanka I. Đurović

**Prognostički značaj vrednosti homocisteina,
folne kiseline i vitamina B12 u krvi obolelih od
malignih tumora mozga**

doktorska disertacija

Kragujevac, 2022.



UNIVERSITY OF KRAGUJEVAC
FACULTY OF MEDICAL SCIENCES

Zivanka I. Djurovic

Prognostic significance of homocysteine, folic acid and vitamin B12 in the blood of patients with malignant brain tumorsrats

doctoral dissertation

Kragujevac, 2022.

ИДЕНТИФИКАЦИОНА СТРАНИЦА ДОКТОРСКЕ ДИСЕРТАЦИЈЕ

<i>Аутор</i>
Име и презиме: Живанка Ђуровић
Датум и место рођења: 11.04.1963. године, Београд, Република Србија
Садашње запослење: Начелник службе за здравствену администрацију, здравствено сарадничке и немедицинске послове клинике за ортопедску хирургију и трауматологију Клиничког центра Србије
<i>Докторска дисертација</i>
Наслов: Прогностички значај вредности хомоцистеина, фолне киселине и витамина В12 у крви оболелих од малигнух тумора мозга
Број страница: 87
Број слика: 2 слике, 32 табеле, 45 графика
Број библиографских података: 163
Установа и место где је рад израђен: Факултет медицинских наука, Универзитет у Крагујевцу, Крагујевац
Научна област (УДК): медицина
Ментор: Проф. др Владимир Живковић
<i>Оцена и одбрана</i>
Датум пријаве теме: 12.12.2018.
Број одлуке и датум прихватања теме докторске/уметничке дисертације: бр. IV-03-274/9 од 09.04.2019.
Комисија за оцену научне заснованости теме и испуњености услова кандидата: <ol style="list-style-type: none">1. Проф. др Владимир Јаковљевић, редовни професор Факултета медицинских наука Универзитета у Крагујевцу за ужу научну област Физиологија, председник;2. Проф. др Драган Ђурић, редовни професор Медицинског факултета Универзитета у Београду за ужу научну област Физиологија, члан;3. Доц. др Иван Срејовић, доцент Факултета медицинских наука Универзитета у Крагујевцу за ужу научну област Физиологија, члан.
Комисија за оцену и одбрану докторске дисертације: <ol style="list-style-type: none">1. Проф. др Владимир Јаковљевић, редовни професор Факултета медицинских наука Универзитета у Крагујевцу за ужу научну област Физиологија, председник;2. Доц. др Војин Ковачевић, доцент Факултета медицинских наука Универзитета у Крагујевцу за ужу научну област Хирургија, члан;3. Проф. др Тихомир Илић, редовни професор Медицинског факултета Војномедицинске академије Универзитета одбране у Београду за ужу научну област Неурологија, члан.
Датум одбране дисертације:

IDENTIFIKACIONA STRANICA DOKTORSKE DISERTACIJE

<i>Autor</i>
Ime i prezime: Živanka Đurović
Datum i mesto rođenja: 11.04.1963. godine, Beograd, Republika Srbija
Sadašnje zaposlenje: Načelnik službe za zdravstvenu administraciju, zdravstveno saradničke i nemedicinske poslove klinike za ortopedsku hirurgiju i traumatologiju Kliničkog centra Srbije
<i>Doktorska disertacija</i>
Naslov: Prognostički značaj vrednosti homocisteina, folne kiseline i vitamina B12 u krvi obolelih od malignih tumora mozga
Broj stranica: 87
Broj slika: 2 slike, 32 tabele, 45 grafika
Broj bibliografskih podataka: 163
Ustanova i mesto gde je rad izrađen: Fakultet medicinskih nauka, Univerzitet u Kragujevcu, Kragujevac
Naučna oblast (UDK): medicina
Mentor: Prof. dr Vladimir Živković
<i>Ocena i odbrana</i>
Datum prijave teme: 12.12.2018.
Broj odluke i datum prihvatanja teme doktorske/umetničke disertacije: br. IV-03-274/9 od 09.04.2019.
Komisija za ocenu naučne zasnovanosti teme i ispunjenosti uslova kandidata: <ol style="list-style-type: none">1. Prof. dr Vladimir Jakovljević, redovni profesor Fakulteta medicinskih nauka Univerziteta u Kragujevcu za užu naučnu oblast Fiziologija, predsednik;2. Prof. dr Dragan Djurić, redovni profesor Medicinskog fakulteta Univerziteta u Beogradu za užu naučnu oblast Fiziologija, član;3. Doc. dr Ivan Srejšević, docent Fakulteta medicinskih nauka Univerziteta u Kragujevcu za užu naučnu oblast Fiziologija, član.
Komisija za ocenu i odbranu doktorske disertacije: <ol style="list-style-type: none">1. Prof. dr Vladimir Jakovljević, redovni profesor Fakulteta medicinskih nauka Univerziteta u Kragujevcu za užu naučnu oblast Fiziologija, predsednik;2. Doc. dr Vojin Kovačević, docent Fakulteta medicinskih nauka Univerziteta u Kragujevcu za užu naučnu oblast Hirurgija, član;3. Prof. dr Tihomir Ilić, redovni profesor Medicinskog fakulteta Vojnomedicinske akademije Univerziteta odbrane u Beogradu za užu naučnu oblast Neurologija, član.
Datum odbrane disertacije:

DOCTORAL DISSERTATION IDENTIFICATION PAGE

<i>Author</i>
Name and surname: Zivanka Djurovic
Date and place of birth: 11.04.1963., Belgrade, Republic of Serbia
Current employment: Head of the Service for health administration, health cooperation and non-medical affairs of the Clinic for orthopedic surgery and traumatology of the Clinical center of Serbia
<i>Doctoral Dissertation</i>
Title: Prognostic significance of homocysteine, folic acid and vitamin B12 in the blood of patients with malignant brain tumors
No. of pages: 87
No. of images: 2 images, 32 tables, 45 graphs
No. of bibliographic data: 163
Institution and place of work: Faculty of Medical Sciences, University of Kragujevac, Kragujevac
Scientific area (UDK): medicine
Mentor: Assoc. prof. Vladimir Zivkovic
<i>Grade and Dissertation Defense</i>
Topic Application Date: 12.12.2018.
Decision number and date of acceptance of the doctoral/artistic dissertation topic : no IV-03-274/9 from 09.04.2019.
Commission for evaluation of the scientific merit of the topic and the eligibility of the candidate: <ol style="list-style-type: none">1. Prof. dr Vladimir Jakovljevic, Full professor at the Faculty of Medical Sciences, University of Kragujevac, Physiology, president;2. Prof. dr Dragan Djuric, Full professor at the Medical faculty, University of Belgrade, Physiology, member;3. Prof. dr Ivan Srejovic, Assistant professor at the Faculty of Medical Sciences, University of Kragujevac, Physiology, member.
Commission for evaluation and defense of the doctoral dissertation: <ol style="list-style-type: none">1. Prof. dr Vladimir Jakovljevic, Full professor at the Faculty of Medical Sciences, University of Kragujevac, Physiology, president;2. Prof. dr Vojin Kovacevic, Assistant professor at the Faculty of Medical Sciences, University of Kragujevac, Surgery, member;3. Prof. dr Tihomir Ilic, Full professor at the Medical faculty of the Military Medical Academy, University of Defense in Belgrade, Neurology, member.
Date of Dissertation Defense:

Сажетак

Увод: Последњих година се све више указује на могуће ефекте хомоцистеина и једињења укључених у његов метаболизам у карциномима нервног ткива. У том смислу, може се уочити да је ефекат хомоцистеина, фолне киселине и витамина В12 на формирање, развој и исход лечења код пацијената са карциномима мозга веома интригантна питање, чији одговор захтева додатно експериментално и клиничко истраживање. У литератури нема довољно података о учесталости повишених нивоа Нсу у крви, као ни о поремећајима фолне киселине и витамина В12 код малигнух тумора мозга.

Циљ: Генерални циљ ове студије је био да утврди прогностички значај вредности хомоцистеина, фолне киселине и витамина В12 у крви код пацијената адултне популације са малигнух туморима мозга.

Метод: Студијом је било обухваћено 100 испитаника оба пола који су у периоду од 24 месеца били праћени и хируршки лечени од малигнух и бенигнух неурохируршких патоанатомских супстрата на Неурохируршкој клиници Клиничког центра Србије. Месец дана, три месеца и шест месеци након операције код испитаника и са малигнух и бенигнух тумором сакупљани су узорци крви ради одређивања концентрације следећих параметара: укупни хомоцистеин, витамин В12 и фолна киселина; рутинске биохемијске анализе (крвна слика, липидни профил, хепатограм, уреа и креатинин); маркера инфламације (С-реактивни протеин, фибриноген, прокалцитонин).

Резултати: Концентрација хомоцистеина била је значајно већа код пацијената код којих је болест унапредовала у поређењу са пацијентима код којих болест није унапредовала, чак и шест месеци након хируршког одстрањивања тумора, али остајући у физиолошким границама. Ово потенцијално значи да се мерење вредности хомоцистеина може евентуално размотрити као маркер прогресије малигнух обољења мозга. Потребна су даља и комплекснија истраживања на већем броју испитаника како би се сви претходно изнети закључци потврдили и тиме повећала релевантност и клиничка примењивост наших резултата.

Кључне речи: малигни тумори мозга, хомоцистеин, фолна киселина, витамин В12

Abstract

Introduction: The use of mineral waters for medical purposes is largely based on theoretical assumptions (which take into account the relationship between their mineral composition and pathophysiological substrate within a disease) and much less on relevant data from basic and clinical research. Most of the data that indicate that certain types of these waters can alleviate the progression of various diseases and even be associated with complete remission come from non-academic and scientifically unfounded sources. In addition, the mechanisms by which these positive effects are realized are almost unknown.

Objective: The overall aim of this study was to determine the prognostic significance of homocysteine, folic acid and vitamin B12 levels in the blood of adult patients with malignant brain tumors.

Methods: The study included 100 subjects of both genders who were followed and surgically treated for malignant and benign neurosurgical pathoanatomical substrates at the Neurosurgical Clinic of the Clinical Center of Serbia for a period of 24 months. One month, three months, and six months after surgery, blood samples were collected from subjects with both malignant and benign tumors to determine the concentration of the following parameters: total homocysteine, vitamin B12, and folic acid; routine biochemical analyzes (blood count, lipid profile, hepatogram, urea and creatinine); markers of inflammation (C-reactive protein, fibrinogen, procalcitonin).

Results: Homocysteine concentrations were significantly higher in patients in whom the disease progressed compared to patients in whom the disease did not progress, even six months after surgical removal of the tumor, but remaining within physiological limits. This potentially means that measuring homocysteine levels can potentially be considered as a marker of the progression of malignant brain diseases. Further and more complex research is needed on a larger number of respondents in order to confirm all the previously presented conclusions and thus increase the relevance and clinical applicability of our results.

Key words: malignant brain tumors, homocysteine, folic acid, vitamin B12

САДРЖАЈ

I	УВОД.....	11
1.1.	Хомоцистеин – историјат.....	12
1.1.2.	Метаболизам хомоцистеина.....	13
1.2.	Епидемиологија и етиологија хиперхомоцистеинемије.....	14
1.3.	Хомоцистеин као фактор ризика.....	15
1.4.	Хомоцистеин у серуму и плазми.....	17
1.5.	Витамин В12.....	17
1.6.	Фолна киселина (витамин В9).....	17
1.7.	Хомоцистеин и малигни тумори мозга.....	20
1.8.	Витамин В12 и малигни тумори мозга.....	21
1.9.	Фолати и малигни тумори мозга.....	22
II	ЦИЉЕВИ И ХИПОТЕЗЕ ИСТРАЖИВАЊА.....	24
2.1.	Циљеви истраживања.....	25
2.2.	Хипотезе истраживања.....	25
III	МАТЕРИЈАЛ И МЕТОДЕ.....	26
3.1.	Врста студије.....	27
3.2.	Популација која се истражује.....	27
3.3.	Узорковање.....	27
3.4.	Експериментални протоколи.....	28
3.5.	Снага студије и величина узорка.....	28
3.6.	Статистичка анализа резултата.....	29
IV	РЕЗУЛТАТИ.....	30
4. 1.	Патохистолошке карактеристике тумора мозга.....	31
4. 2.	Дистрибуција пацијената према полу, старости и врсти малигнух и бенигнух тумора мозга.....	32
4. 3.	Дистрибуција параметара у оквиру рутинских биохемијских анализа код испитаника различитих форми тумора мозга.....	34
4. 4.	Дистрибуција маркера инфламације код испитаника различитих форми тумора мозга.....	41
4. 5.	Појединачно и међусобно поређење вредности укупног хомоцистеина, фолне киселине и витамина В12 преоперативно, месец дана, три и шест месеци након операције код испитаника са малигним и бенигним тумором мозга.....	45

4. 6. Дистрибуција пацијената у односу на прогресију болести тумора мозга	54
4. 7. Дистрибуција старости пацијената у односу на прогресију болести тумора мозга	54
4. 8. Дистрибуција параметара у оквиру рутинских биохемијских анализа у односу на прогресију болести код испитаника различитих форми тумора мозга	55
4. 9. Дистрибуција маркера инфламације у односу на прогресију болести код испитаника различитих форми тумора мозга	66
4. 10. Појединачно и међусобно поређење вредности укупног хомоцистеина, фолне киселине и витамина В12 у 4 различита мерена временска тренутка (преоперативно, 1 месец, 3 и 6 месеци након операције) код испитаника са и без прогресије болести.....	69
V ДИСКУСИЈА	77
VI ЗАКЉУЧАК	85
VII ЛИТЕРАТУРА	87

I

УВОД

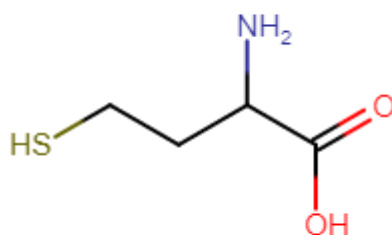
1. УВОД

„Где год се воли уметност лечења, ту се у исто време воли и хуманост.“

Хипократ

1.1. Хомоцистеин – историјат

Хомоцистеин представља сумпорну аминокиселину која се први пут описује у литератури и медицини 1932., када амерички научници Butz и du Vignaud проучавањем инсулина, процесом загревања метионина у сумпорној киселини, приликом експеримената изоловали супстанцу врло сличну аминокиселини цистеин. С обзиром да је ово новоизоловано једињење садржало само једну метил групу више у односу на цистеин, уз сличне физичко-хемијске особине, добило је назив хомоцистеин (Слика 1) односно хемијски bis (γ –амино- γ –карбоксипропил)дисулфид (1). Убрзо затим изолован је и хомоцистеин тиолактон, при чему се долази до сазнања да постоји више облика хомоцистеина, и да се овај тиолактонски облик може хидролизовати у алкалним условима у L-хомоцистеин (2).



Слика 1. Хемијска структура молекула хомоцистеина

1955. године Нобеловом наградом из области хемије за откриће поплипетидних хормона и синтезе аминокиселина од интереса помоћу метионина је обележено откриће хомоцистеина, када овај молекул почиње да завређује пажњу научне јавности (3).

McCully је 1969. године први повезује хиперхомоцистеинемију са васкуларним променама, тј. атеросклерозом. У свом првом од низа каснијих истраживања доказао је да промене у метаболизму В12 витамина, последична хиперхомоцистеинемија код пацијената са дефицијенцијом цистатион синтазе и цистатионемијом могу бити каузално повезане патолошким променама артерија (4). Међутим ера проучавања хомоцистеина као независног фактора ризика почиње 90-их година прошлог века, кад је Clark указао на резултате клиничке студије, где истиче да ниво хомоцистеина утиче на развој и прогресију кардиоваскуларних болести (5).

Последњих неколико деценија, хомоцистеин постаје јако интересантан молекул у медицини, и бива у фокусу научних истраживања, а поготово у грани кардиоваскуларне медицине. До сада су откривене многобројне улоге хомоцистеина у физиолошким и патофизиолошким процесима почевши од атеросклеротских процеса, ендотелне дисфункције, старења, оксидационог стреса, малигнитета, кардиоваскуларних и неуродегенеративних болести (6).

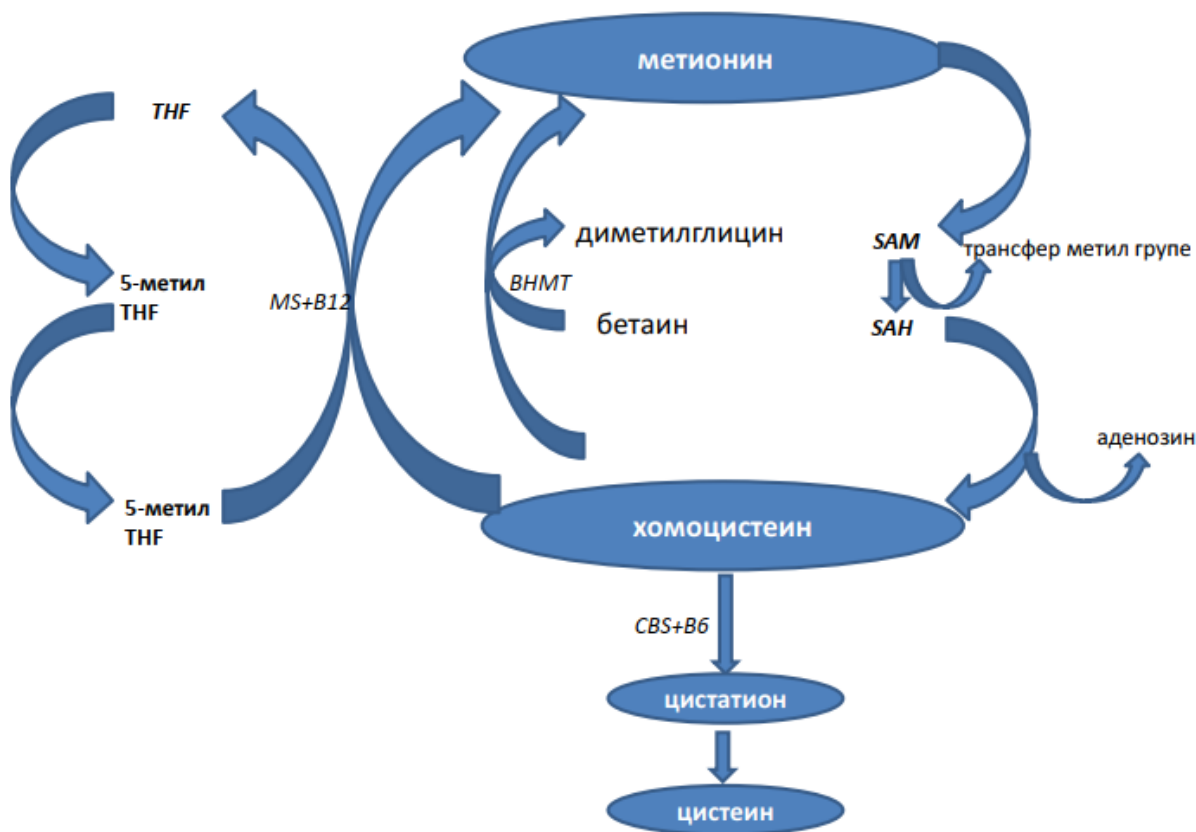
1.1.2. Метаболизам хомоцистеина

Хомоцистеин представља сулфхидрилну аминокиселину која није саставни део протеина нити се уноси путем хране, већ настаје различитим метаболичким реакцијама из метионина. Метионин унесен у организам путем хране се конвертује до метил-донора S-аденозилметионина (SAM) под дејством ензима метионин-аденозилтрансферазе (MAT), при чему као продукти настају S-аденозил хомоцистеин и метиловани продукт у функцији донора метил групе. S-аденозил-хомоцистеин (SAH) потом хидролизује под дејством S-аденозил хидролазе до хомоцистеина и аденозина. Овај низ метаболичких реакција одвија се у свакој ћелији организма и познат је као трансметилација. Даљи метаболизам хомоцистеина подразумева два метаболичка пута: реметилација и транссулфурација.

Хомоцистеин се поново може конвертовати у метионин реметилацијом на два начина, што катализују два ензима метионин синтаза (MS) и бетаин-хомоцистеин метилтрансфераза (BHMT) (7, 8). Главни и убиквитарни начин реметилације хомоцистеина односи се на фолатни циклус реметилације, коју катализује ензим MS, при чему хомоцистеин добија метил групу од донора 5-метилтетрахидрофолата, уз витамин B12 (кобаламин) у функцији кофактора. Метионин синтаза захтева витамин B12 због своје функционалности, а реакција такође укључује рециклирање тетраhydrofolата (из N-5-метилтетрахидрофолата), који се на крају може користити за биосинтезу нуклеотида (9). Метионин синтаза, дакле повезује путеве метаболизма фолата и хомоцистеина.

С обзиром да стварање тетраhydrofolата зависи од уноса егзогеног фолата путем хране или суплемената за метаболизам фолата, низак ниво фолата за последицу може имати смањење супстрата за метионин синтазу, што утиче на претходно поменути пут реметилације. Последично, низак ниво фолата повезује се са високом концентрацијом хомоцистеина у плазми и обрнуто. У помоћном путу, алтернативном путу реметилације која се одвија на нивоу јетре и бубрега, у реакцији коју катализује BHMT, донор метил групе је бетаин, а продукти ове реакције су диметилглицин и метионин. Овај пут није витамин зависни, односно нема учешћа витамина B12 и фолата као кофактора.

Управо ови процеси деметилације и реметилације чине заједно метионински циклус, међутим катаболизам метионина овде није обухваћен. У реакцији транссулфурације коју катализује цистатион- β -синтаза (CBS), као продукт настаје цистатион, кондензовањем хомоцистеина са серином. Цистатион даље подлеже хидролизи до цистеина и α -кетобутирата и ову реакцију катализује ензим γ -цистионаза. Наведене реакције транссулфурације и хидролизе су зависне од витамина B6, који има улогу кофактора (8, 10, 11).



Слика 2. Метаболизам хомоцистеина

1.2. Епидемиологија и етиологија хиперхомоцистеинемиије

Последње деценије, хомоцистеин добио је обележје фактора ризика за инфаркт мозга или миокарда од стране *American Heart Association*, међутим, новија истраживања повезују га и са другим болестима попут, карцинома, Алцхајмерове деменције и атеросклерозе (12). Инциденца хиперхомоцистеинемиије је процењена на 5-10% у општој популацији (13), док је код пацијената са васкуларним обољењима инциденца хиперхомоцистеинемиије повећана 13-47% (14). Постоје подаци да је чак 57% пацијената оболелих од дијабетес мелитуса има и хиперхомоцистеинемиију, при чему постоје и полне разлике, с обзиром да је нађена већа инциденца код мушкараца (15). Поред тога, показано је и да ниво хомоцистеина расте са стерењем, а повећана преваленца хиперхомоцистеинемиије у геријатријској популацији може бити узрокована измењеним нутритивним статусом, успореном апсорпцијом и метаболизмом, карактеристичним за старе (16).

Различити фактори и стања могу условити повећавање нивоа хомоцистеина укључујући бубрежну инсуфицијенцију, инсуфицијенцију јетре, хиперинсулинемију, хипотероидизам, анемију, канцер као и употребу одређених лекова као што су: метформин, холестирамин, деривати фибринске киселине, ниацин, глитазон, фенитоин, метотрексат и орални контрацептиви.

Могући механизми индуковања хиперхомоцистеинемije могу бити смањена апсорпција витамина из црева, у случају метформина и холестирамина, или директно ометање метаболизма фолата и хомоцистеина у случају примене метотрексата, ниацина и деривата фибринске киселине (17). Тачан механизам како орални контрацептиви повећавају ниво хомоцистеина још увек није у потпуности разјашњен, али се сматра да се стероидна једињења могу изметаболисати до пероксида и довести до синтезе слободних радикала који директно стимулишу синтезу хомоцистеина (18). Међутим, етиологија хомоцистеинемije врло често може и бити генетског порекла.

Дефицијенције или мутације гена који кодирају ензиме укључене у метионински циклус, односно метаболизам хомоцистеина попут цистатион-β-синтетазе, метионин синтетазе или метиленететрахидрофолат-редуктазе (MTHFR) такође доводе до хиперхомоцистеинемije, са озбиљним клиничким последицама (19, 20). Такође, постоје и алиментарни узроци хиперхомоцистеинемije попут дефицита витамина В6 и/или В12 и фолата који служе као кофактори у метаболичким реакцијама хомоцистеина, који су последица недовољног уноса путем хране (вегетеријанци, неадекватна припрема хране), поремећај апсорпције услед атрофије желуца или хроничног алкохолизма или повећаних потреба за витаминима код деце (21, 22).

Дефицијенције ових витамина, који узрокују благу хомоцистеинемiju, могу бити ризични фактор за неке болести. Процењена преваленца дефицита витамина В6 је 10,6%, фолата мање од 1%, витамина В6 око 6% у САД (23). Преваленца дефицита ових витамина је већа у Азији – процењује се да је дефицит витамина В6 52,8%, дефицит фолата 39,7%, код здравих особа у Пакистану, док је преваленца дефицита витамина В12 око 70% у Индији (24). Значајан је и податак да је хиперхомоцистеинемija присутна код чак 85% пацијената са хроничном бубрежном инсуфицијенцијом. Код ове популације пацијената узроци хиперхомоцистеинемije могу бити вишеструку, почевши од смањеног бубрежног клиренса, промене метаболизма хомоцистеина (повећање процеса пероксидације) до генетских аномалија (цистатион-β- недостатак синтетазе или недостатак MTHFR) и / или недостатак витамина (В6, В12 или фолна киселина) (22).

1.3. Хомоцистеин као фактор ризика

Многобројне студије су током последњих година указале на значај хомоцистеина у многим патологијама, па се до данас хомоцистеин се сматра потенцијалним фактором ризика за различите болести као што су: кардиоваскуларне болести и њене компликације, инфаркт миокарда и мозга, атеросклероза, венска тромбоза, васкуларне компликације, неуродегенеративне болести и карциноми (25-27). Сматра се да хиперхомоцистеинемija доводи и до оштећења ендотела, смањења флексибилности судова и утиче на процес хемостазе (12). Додатно, хиперхомоцистеинемija може да појача нежељене ефекте других фактора ризика попут хипертензије, пушења, дислипидемије, као и да подстакне развој инфламације.

Као што је и претходно поменуто, бројна спитивања јасно су показала да хомоцистеин може индуковати инфламацију и атеросклерозу и тако повећати ризик од кардиоваскуларних болести и смрти. Међутим, овај ризик је још и већи код пацијената са дијабетесом у поређењу са општом популацијом (28). Хиперхомоцистеинемija се такође повезује са оксидационим стресом и инфламацијом у дијабетес мелитусу тип 2.

Повишен ниво хомоцистеина у крви повећава оксидациони стрес који је повезан са променама у интрацелуларном метаболизму а такође је и *per se* поуздан индикатор ендотелне дисфункције. Од великог је значаја и напоменути да је фолат неопходан за синтезу азот-моноксида (NO) у васкуларном ендотелу. У условима оксидационог стреса, потреба за NO се додатно повећава, и више фолата бива коришћено за синтезу NO, а то резултира смањеном количином доступног фолата за реметилациони процес, и коначно узрокује хомоцистеинемiju (29). Обрнуто се дешава када постоји хомоцистеинемija, више фолата се користи за циклус реметилације, што доводи до смањене синтезе NO и оксидационог стреса. Стога, сматра се у научној јавности да хомоцистеинемija индукује оксидациони стрес, и обратно да оксидациони стрес индукује хомоцистеинемiju (29). Други механизми којима хомоцистеин може индуковати ендотелну дисфункцију подразумевају ендоплазматски ретикулум стрес, апоптозу васкуларних ендотелних ћелија, али хроничну инфламацију и протромбогено стање (30, 31).

Висок ниво хомоцистеина промовише оксидативни стрес у васкуларним ћелијама и ткиву због стварања реактивних врста кисеоника (РОС), које су снажно укључене у развој атеросклерозе. Сматра се да РОС узрокује повреде ендотела, ендотелну дисфункцију и активацију (32).

Повишени ниво хомоцистеина делује проинфламаторно, нарочито у васкуларним ћелијама и индукује миграцију леукоцита у зид крвних судова услед повећане експресије адхезивних молекула (ICAM-1, VCAM-1) на ендотелним ћелијама и циркулишућим моноцитима и неутрофилима. Ово резултује инфилтрацијом леукоцита у ћелијама артеријама посредовано повећаним лучењем хемокина, и у диференцијацији моноцита у макрофаге који уклањају холестерол. Поред тога, стимулише се и пролиферацију васкуларних ћелија глатких мишића финално доводећи до појаве атеросклеротичних лезија (33, 34).

Додатно, многобројна истраживања истичу хиперххомоцистеинемiju као независни фактор ризика за неуродегенеративне болести, попут Алхајмерове деменције (35). Анималне студије потврдиле су ову хипотезу, с обзиром да је студија на трансгеном мишјем моделу Алцхајмерове болести доказала да метионинска дијета утиче на снижавање хомоцистеина и ефикасно смањује амилоидозу мозга и побољшава когнитивни дефицит (36).

Недавна студија спроведена на старијим пацијентима са хиперххомоцистеинемijом и дијетом обогаћеном витаминима В12, В6 и фолатима показала је бенефицијални ефекат овог третмана на когнитивну функцију (37). Међутим, оваква стратегија за снижавање нивоа хомоцистеина у плазми није се показала корисном у рандомизованом, плацебо контролисаном истраживању са пацијентима оболелих од Алцхајмерове болести (38).

Студија која је обухватила популацију > 1200 шведских жена, показала је да висока концентрација хомоцистеина у плазми у средњем добу јесте независни фактор ризика за каснију деменцију и Алцхајмерову болест (39). С друге стране, код пацијената који већ имају дијагностиковану Алцхајмерову болест, стопа когнитивног опадања је у позитивној корелацији са концентрацијом хомоцистеина у плазми (40).

1.4. Хомоцистеин у серуму и плазми

Хомоцистеин се у плазми мође наћи у више различитих облика, свега 1% у виду слободног тиола, док је чак 70–72% дисулфидни облик везан за протеин плазме албумин, а остатак 20–30% чине димерни хомоцистеина или тиоли (41). Мерење укупног нивоа хомоцистеина (tHcy) се може дефинисати као збир свих облика хомоцистеина у плазми/серуму, и слободних и оних везаних за протеине (42). Када се говори о методама мерења концентрације хомоцистеина, неопходно је узети у обзир да треба доћи до слободног облика, а затим и да постоји проблем нестабилности хомоцистеина у пуној крви, као и варијација концентрација хомоцистеина након узимања хране или ортостатски (41, 42).

Конвенционални приступ мерења ниво хомоцистеина за дијагнозу хомоцистинурије био је мерење хомоцистеина који није везан за протеине јоноизмењивачком хроматографијом. Међутим проблем код овог начина је што само у концентрацији укупног хомоцистеина у плазми > 60 mmol/L може бити детектован слободни хомоцистеин.

С друге стране, предност мерења укупног хомоцистеина је што се узорци могу замрзнути и анализирати чак и након неколико година (41, 43-44). Данас постоје више метода за квантитативно одређивање хомоцистеина попут минијатуризовани електрохемијски теста, анализатора аминокиселина, имунолошких есеја, капиларне електрофорезе, флуоресценције и хроматографских метода (45).

Препоручени референтни интервал концентрације хомоцистеина у плазми увелико се разликују од лабораторије до лабораторије. Још пре 3 деценије, препоруке су се односиле на одржавање нивоа хомоцистеина < 10,0 $\mu\text{mol/L}$ (46). Неколико година касније истакнуто је у мета-анализи да патогеност хомоцистеина је пропорционална са његовом концентрацијом чак и расте, чак и уколико је ниво хомоцистеина унутар биолошки референтног интервала 5–15 $\mu\text{mol/L}$ (47). Недуго затим, ниво хомоцистеина > 15 $\mu\text{mol/L}$ почиње да носи назив хомоцистеинемиа, да би 1996. Malinov и сарадници степен хомоцистеинемие поделили на као благ (16-30 $\mu\text{mol/L}$), умерен (31-100 $\mu\text{mol/L}$) и тежак (> 100 $\mu\text{mol/L}$) (48).

1.5. Витамин В12

Витамин В12 такође познат и као цијанокобаламин припада групи хидросолубилних витамина који се издваја по својој јако комплексној грађи и улози у организму човека у процесима развоја и сазревања крвних ћелија, интеракцији са метаболизмом фолата, али и у одржавању нормалне функције нервног система. Првенствено је витамин В12 у кристалном облику изолован 1947. године, да би тек 1964. била утврђена структура овог комплексног једињења рендген кристалографијом, при чему је ово научно достигнуће одликовано Нобеловом наградом (Dorothy Crowfoot Hodgkin-Oxford University) (49).

Језгро комплексног једињења витамина В12 чини корински прстен, који по много чему подсећа на порфирин, где је централни метални јон атом кобалта-Со(III) који је координативно ковалентно везан за азотов атом из сваког од четири пиролска прстена. Пету везу атом кобалта остварује са азотом из 5,6-диметилбензимидазола, док шести лиганд може бити метил група као код метилкобаламина, 5'-деоксиаденозин на 5' позицији као код аденозилкобаламина или цијанидна група као код цијанокобаламина (50).

Под термином витамин В12 обухватају се оба наведена биолошки активна облика кобаламина, метилкобаламин и аденозилкобаламин, који настају у два различита метаболичка пута. Њихов метаболизам као и њихове функције су различите. Аденозилкобаламин је главни облик витамина В12 у митохондријама, док се метилкобаламин налази у цитосолу, и превасходно у крви и осталим телесним течностима. Метилкобаламин има јако важну улогу у хематопоези јер представља кофактор ензима метионин синтазе која учествује у синтези метионина из хомоцистеина. У случају дефицијенције витамина В12 смањен ниво метилкобаламина индукује функционални дефицит фолата.

Након пероралне примене витамин В12 се везује за хаптокорине из пљувачних жлезда и доспева кроз желудац у дуоденум где протеазе панкреаса разграђују протеине хаптокорина и ослобађају витамин В12. Да би се витамин В12 апсорбовао неопходно је присуство интринзичког фактора у желуцу. Паријеталне ћелије желуца заправо синтетишу овај фактор који се транспортује до дуоденума и везује кобаламин у танком цреву, даље се у облику овог комплекса са интринзичким фактором витамин В12 активно апсорбује. У ентероцитима кобаламин дисосује од интринзичког фактора и транспортује се у циркулацију, где се налази везан за транскобаламин ради уласка у ткива. Ентерохепатична циркулација потом ослобађа кобаламин у жуч везану за хаптокорин. Овај кобаламин се може реапсорбовати у илеум у присуству унутрашњег фактора (51).

Витамин В12 статус може се проценити мерењем концентрације кобаламина у серуму или плазми, али и мерењем концентрације холотранскобаламина, метилмалонске киселине и хомоцистеина (52, 53). Да би се правилно проценио ниво В12 витамина, неопходно је мерење свих наведених јер је одређивање у серуму или плазми ограничене сензитивности и специфичности у дијагностици, док је одређивање само метилмалонске киселине финансијски захтевније, а постоји и проблем доступности овог теста (54).

С друге стране, рана процена В12 статуса може се спровести мерењем холотранскобаламина, јер је то облик у којем витамин В12 улази у ћелије (55). Референтне вредности нивоа витамина В12 код одраслих особа износи 200-600 pmol/L, док је гранична вредност за дефицијенцију овог витамина <148 pmol/L. Међутим, мишљења се разликују, с обзиром да субклинички недостатак В12 витамина може бити детектован и при вишим вредностима В12 у серуму или плазми, мерењем концентрације хомоцистеина и метилмалонске киселине (референтне вредности 0,04 – 0,37 μmol/L; >0,37 гранична вредност за дефицит В12 витамина). Тако на пример, код пацијената са пернициозном анемијом присутна су неутралишућа антитела против интринзичког фактора, па се може јавити лажно позитивни резултати, тј. нормалан ниво В12.

Додатни фактор који може на утицати на ниво В12 је старост. Упркос ограничавајућим факторима, у пракси се све више користе биомаркери - укупни В12, холотранскобаламин, метилмалонска киселина и хомоцистеин, као и комбинације истих. Мерење активног облика В12 холотранскобаламина потенцијално би требало да буде сензитивније у односу на укупан В12 ниво у серуму (56).

Узевши у обзир метаболичке процесе у које је укључен В12 витамин и њихову интерференцију са хомоцистеином, уобичајено је и да дође до акумулације хомоцистеина и метилмалонске киселине код дефицијенције В12. Међутим и на мерење хомоцистеина утичу и други фактори попут пола, старости, тиреоидне и бубрежне функције, ниво фолата и В6 витамина (53).

1.6. Фолна киселина (витамин В9)

Фолна киселина или витамин В9 се убраја у групу хидросолубилних витамина, есенцијалних за развој, процесе метилације и синтезу ДНК молекула у организму човека. Фолна киселина по својој хемијској структури представља птероилмоноглутаминску киселину, која садржи птеридински прстен и моноглутамински остатак. Овакав облик не може се наћи у организму већ само као синтетски препарати фолне киселине и због захвалних фармакокинетских карактеристика, стабилности и апсорпције у овим облику се користи за обогаћивње намирница као и у суплементима (57). Међутим, под термином фолати подразумевају се сви метаболити фолне киселине настали редукцијом који су биолошки активни.

Главни биолошки активни фолат јесте 5-метил-тетрахидрофолат (ТНФ), који се састоји из птеридинског прстен, за који је везан р-аминобензоатни остатак и полиглутамилски низ. Остали фолати настају редукцијом птеридинског прстена. Првенствено под дејством дихидролатредуктазе настаје дихидрофолат, који даље редукује до тетраhydroфолата који преузима метил групу од аминокиселине серин и формира 5,10-метилен-ТНФ. Ова форма је јако важна за синтезу ДНК јер се 5,10-метилен-ТНФ потом оксидује до 5,10-метенил-ТНФ из ког настаје 10-формил-ТНФ укључен у синтезу пуринских база који су саставни део ДНК.

С друге стране, фолати су важни и за метаболизам хомоцистеина, и њихови метаблички путеви интерферирају. Ензим метилентетрахидрофолат редуктаза (МТНФР) катализује конверзију 5,10-метилен-ТНФ у 5-МТНФ неопходан за процес реметиловања хомоцистеина до метионина уз учешће метионин синтазе MS и кофактора витамина В12 (58, 59). Постоји неколико приступа за процену фолатног статуса. Иницијално се приступа мерењу концентрације фолата у серуму или плазми. Међутим, неколико фактора може утицати на ниво фолата мерен на овај начин попут времена уноса суплемента фолата (рапидно повећање фолата у серуму након уноса у првих 2 сата, након чега следи нагли пад) и узимање узорка који није наташте може пореметити тачност измерених фолата (60).

Такође, од велике је важности идентификовати појединце са неочекивано високом концентрацијом фолата у серуму / плазми и истовремени дефицит витамин који могу јако штетно утицати на здравље (61). Разлог за то је што пацијенти са озбиљним недостатком В12 често прати и оштећена синтеза метионина и акумулација 5-МТНФ, који дифундује из ћелија и последично доводи до високих концентрација фолата у серуму / плазми и ниска концентрација. У том случају МТНФ остаје заробљен јер не може да се конвертује у ТНФ због недовољно кофактора витамина В12 што указује на функционални дефицит фолата и може довести до мегалобластне анемије (62).

Други, поузданији начин за процену фолатног статуса је мерење фолата у еритроцитима где су концентрације фолата константније јер се фолат налази у еритроцитима и током еритропоезе, а узевши обзир и животни век еритроцита од 3 месеца, овај маркер указује на фолатни статус у протекла 3 месеца (60). У овом случају, потенцијални проблем може бити лажно негативан резултат код пацијената са В12 дефицијенцијом, као и сама техника имуноесеја који захтева да фолат буде хидролизован до моноглутамата, јер уколико ови поступци нису стандардизовани, мерење може бити недовољно поуздано (63).

С обзиром да метаболички путеви хомоцистеина и фолата интерферирају, стандардни алгоритам за процену фолатног статуса првенствено подразумева проверу нивоа фолата у серуму или плазми (гранична вредност за дефицит фолата <6,8 nmol/L), потом проверу нивоа хомоцистеина и у случају хиперхомоцистеинемије даљу проверу В12 статуса, а тек на крају и процену фолатног статуса у еритроцитима (60, 64). Референтне вредности фолата према Светској здравственој организацији (СЗО) износе 6-20 ng/mL, док се вредности < 3 ng/mL сматрају дефицијенцијом фолата, а вредности >20 ng/mL повишеном концентрацијом фолата (65, 66)

1.7. Хомоцистеин и малигни тумори мозга

Као један од најчешћих примарних тумора централног нервног система (80% свих малигнух глиома) за озбиљним последицама и честим леталним исходом издваја се глијални тумор мултиформни глиобластом (*glioblastoma multiforme*) (67). Уз велике напоре медицине и науке, агресивну терапију у виду хируршке ресекције, хемио- и радиотерапије стопа преживљавања овог обољења остаје ниска свега 3-5% у прве 2 године од постављања дијагнозе (68).

Поред тога, на другом месту издваја се анапластични астроцитом (*anaplastic astrocytoma*) такође примарни тумор мозга, дифузно инфилтрирајући, малигни, астроцитни, и најчесталији код код младих. Међутим, наспрам мултиформног глиобластома стопа преживљавања је значајно виша (петогодишња 28%) (69).

Ензим 5-метилтетрахидрофолат-хомоцистеин S-метилтрансфераза (MTR или метионин синтаза) катализује реметилацију хомоцистеина у метионин и као што је претходно дискутовано, има велики утицај на метилацију ДНК као и на синтезу нуклеинских киселина.

Доказано је да полиморфизам G-алела MTR c.2756A> G (D919G) повећава предиспозицију за различите карциноме (70-73). Такође, полиморфизам метилтетрахидрофолат редуктазе (MTHFR) која катализује синтезу 5-метилтетрахидрофолата, кофактора за MTR и то MTHFR c.677C> T (A222B) се повезује са различитим врстама карцинома (74).

Међутим, интересантно је да у студији која је проучавала повезаност полиморфизама MTR c.2756A>G (D919G), MTHFR c.677C>T (A222V), и Tc2 c.776C>G (P259R) и глиобластома мултиформе, није пронађена позитивна корелација. Штавише, уочен је протективни ефекат G-алела MTR c.2756A>G (D919G), јер је преваленца овог алела 28% међу оболелим од глиобластома наспрам 43% међу контролним пацијентима (odds ratio 0,52) (67).

Претклиничке студије указују на неуротоксичност и ексцитотоксичност хомоцистеина. Карактеристично, испитиван је и утицај D,L-хомоцистеина на глиобластом ћелије (T98G), при чему је утврђено да растуће концентрације примењеног хомоцистеина (до 50 μm) повећавају стопу смртности ћелија, као и смањују вијабилност.

С обзиром да се у организму налази L-енантиомер, ова концентрација заправо одговара 25 μm, која је у претходним истраживањима утврђена у цереброспиналној течности пацијената оболелих од неуродегенеративних болести, попут Алцхајмера (75). Стога, може се рећи да оштећење неурона и глија ћелија индуковано хомоцистеином повезано са етиопатогенезом неуродегенеративних болести, па и малигнитета ЦНС-а.

Поремећен метаболизам цистеина такође може допринети развоју можданих тумора. Аутори истичу да се смањена експресија ензима цистатион синтазе (CBS), који катализује конверзију хомоцистеина у цистатион, у хуманим глиома ћелијама (U87-MG) доводи до повећања експресије HIF-2 α гена и нивоа HIF-2 α протеина и последично може допринети развоју тумора након s.c. или i.c. инјекције имунодефицијентним мишевима (76).

Повишена концентрација tHcy примећена је код пацијената са глиомима тежег степена (мултиформни глиобластом) у поређењу са здравим пацијентима. Брзи прогресивни и инвазивни раст овог тумора и већи унос метионина може бити објашњење за повећану концентрацију tHcy у овом ткиву. Узевши у обзир да се туморске ћелије брзо деле, ензиме ДНК-метилазе имају повећану потребу за S-аденозилметионином (SAM), чији је прекурсор управо метионин (77).

Механизам неуротоксичног и туморског дејства хомоцистеина огледа се у његовом проинфламаторном дејству, активацији коагулације која доприноси и врло честим компликацијама глиобластома попут плућне емболије и венске тромбозе, претерана активацији NMDA рецептора за глутамат, и повећаној продукцији реактивних кисеоничних врста, водећи ка оксидационом стресу (12).

1.8. Витамин В12 и малигни тумори мозга

Познато је да ћелије које се брзо деле, попут туморских, имају много веће потребе и и многосу већи потрошачи витамина В12 и фолата (витамин В9) у односу на здраве ћелије, те су због тога склоне дефицијенцији ових витамина (53). Додатно, истраживања су показала да транскобаламин II (ТСII) и рецептор за транскобаламин II (ТСbIR / CD320), који посредују у уносу В12 у ћелије имају повишену експресију у ћелијама карцинома (78).

Стога, велики потенцијал за примену у онкологији управо имају антагонисти фолата (В9) или витамина В12 који делују антипролиферативно. Данас широко примењиван лек за лечење карцинома код људи, метотрексат управо делује на том принципу и потиче од мале структурне модификације витамина В9 (антиметаболит фолата). Међутим, до сада није регистрован ниједан дериват антивитамина В12 (79).

Неки аутори истичу да дефицијенција витамина В12 условљава спорију пролиферацију и бржу диференцијацију ћелија неуробластома интеракцијом различитих сигналних путева који укључују повећану експресију протеин фосфатазе 2А (PP2А), про-нервног фактора раста (pro-NGF) и тумор некрозирајући фактор конвертујућег ензима (ТАСЕ) (80).

Депривација кобаламина разматра се као потенцијална терапијска стратегија за лечење глиобластома, с обзиром да постоје докази да *in vitro* индукција недостатка витамина В12 применом HCCL (хидроксикобаламин С лактам) антагонисте кобаламина, доводи до инхибиције раста ћелија глиобластома тако што зауставља G2/M фазу ћелијског циклуса (81).

Улога витамина В12 у карциногенези можданог ткива актуелна је и истраживана још 1980-их година, када су пионирска истраживања утврдила да примена бустер доза витамина В12 и С (еквивалентно 1,2 g витамина В12 и 22,8 g витамина С код човека) ипак не делује антинеопластично против глиома L9 код Fisher CDF соја пацова, иако је претходно доказано да постоје бенефити ове суплементације код асцитес тумора (82).

Туморске сфере глиобластома зависе од метионина услед поремећаја у метаболизму фолата и једнокарбонских једињења. Овај циклус заправо балансира ток једнокарбонских једињења ка фолатном циклусу, неопходном за синтезу нуклеотида који улазе у састав ДНК и РНК и енергетском метаболизму, или алтернативно ка метионинском циклусу ради производње метионина где представља прекурсор САМ, неопходног за метилацију ДНК, РНК, хистона и протеина који утичу на експресију гена (83).

1.9. Фолати и малигни тумори мозга

Једна од круцијалних улога фолата у организму човека јесте синтеза тимидилата, неопходних за синтезу ДНК молекула као и процеси поправке ДНК молекула. Узевши у обзир незаобилазну улогу фолата у метаболизму једнокарбонских једињења и метилационом циклусу, може се тврдити да фолати повећавају стабилност ДНК молекула, као и да спречавају оштећење ДНК индуковано слободно радикалским врстама.

Епигенетске модификације, а нарочито модификације ДНК метилације, данас су у науци препознате као учестале промене које имају важну улогу у туморигенези (84). Најчешће се уочавају две различите промене метилације ДНК код карцинома, глобална хипометилација ДНК на нивоу целог генома и регионална хипометилација или хиперметилација унутар CpG острваца специфичних промотора гена. Сматра се да оба начина хипометилације доводе да активације протоонкогена и индукују нестабилност хромозома (85). Стога се метилација ДНК налази у фокусу истраживања као врло атрактивна стратегија против карцинома, јер метилација представља реверзибилан процес који је укључен у скоро све путеве карциногенезе, тако да овакав терапијски приступ би потенцијално могао да оповргне дефектну експресију гена укључених у апоптозу, контролу ћелијског циклуса, инвазивност туморских ћелија и метастазе, као и ангиогенезу (86). У складу са тим сазнањима, Hervouet и аутори су испитивали утицај суплементације фолатима на метилациони статус, пролиферацију и апоптозу ћелија глиома. Они сугеришу да суплементација фолатима доводи до побољшања реметилацију ДНК посредством транс-транскрипционе регулације посредоване Sp1 / Sp3 генима који кодирају протеине Dnmt3a и Dnmt3b, две *de novo* метилтрансферазе.

Такође, примећено је да метилација ДНК индукована фолатима смањује пролиферацију и повећава осетљивост на апоптозу индуковану темозоломидом у ћелијама глиома кроз метилацију гена умешаних у ове процесе (PDGF-B, MGMT, survivin и bcl-w). (87). Ова проблематика је даље истраживана при чему су и друге групе истраживача дошле до сличних закључака. С обзиром да је хипометилација промотора MGMT (Об-метилгуанин.ДНК-метил трансфераза) уско повезана за резистенцијом туморских ћелија глиома на цитостатску терапију темозоломидом, истраживачи су покушали да испитају ефекат најчешћих полиморфизама MTHFR (C677T и A1298C) на метилацију MGMT према нивоу фолата у серуму пацијената са глиомом из Кине.

Показано је да само хомозиготи са С677Т МТНFR геном и ниском нивоом серумског фолата имају значајно нижи ниво метилације MGMT, и последично већи ризик од резистенције на лек (88). Студије на анималним моделима глиомагенезе потврдиле су да примена фолата смањује величину тумора код третираних мишева. У овој студији примећено је да примена фолата повећава ниво метилације ДНК тумора и MGMT и специфичних (PDGF-B или сурвивин) онкогена, али да не утиче на експресију тумор супресорских гена попут p53, PTEN или бах у туморском ткиву., што указује на потенцијално антинеопластично дејство фолата код глиома и могућу адјувантну примену у терапији ове популације пацијената (89). Међутим, контроверзна су мишљења око примене фолата код глиома, с обзиром да постоји ризик од потенцијалног „онкогеног“ ефекта фолата у смислу метилације тумор супресорских гена (90).

II

ЦИЉЕВИ И ХИПОТЕЗЕ ИСТРАЖИВАЊА

2.1 Циљеви истраживања

Главни циљ

Генерални циљ ове студије је био да испита и утврди предиктивни значај вредности хомоцистеина, фолне киселине и витамина В12 у крви код пацијената адултне популације којима је дијагностикован неки од малигнух тумора мозга.

Специфични циљеви

- Утврдити односе између вредности хомоцистеина, фолне киселине и витамина В12 са врстом и стадијумом малигне болести мозга.
- Утврдити ефекте примењене терапије на промене у вредностима хомоцистеина, фолне киселине и витамина В12.
- Утврдити прогностички значај хомоцистеина као могућег маркера туморске активности.
- Проучавање динамике хомоцистеина, фолне киселине и витамина В12 у плазми код одраслих са малигнуим и бенигнуим тумором мозга и евалуација промена у односу на дијагностику, лечење и праћење болести.

2.2 Хипотезе истраживања

- Вредности хомоцистеина, фолне киселине и витамина В12 могу имати предиктивни значај у дијагностици рецидива малигне болести, третману и праћењу одраслих са малигнуим тумором мозга.
- Вредности хомоцистеина, фолне киселине и витамина В12 могу корелирати са бољим или лошијим одговором на хемиотерапију и радиотерапију код пацијената са малигнуим тумором мозга.
- Вредности хомоцистеина, фолне киселине и витамина В12 у крви испитаника са малигнуим тумором мозга ће бити веће у односу на групу испитаника са бенигнуим тумором мозга.
- Очекује се пораст концентрације хомоцистеина, фолне киселине и витамина В12 у крви код испитаника са малигнуим тумором мозга након месец дана и три месеца од оперативног захвата, са значајним променама у концентрацији ових параметара шест месеци након операције.

III

МАТЕРИЈАЛ И МЕТОДЕ

3.1. ВРСТА СТУДИЈЕ

Студија је креирана као проспективна клиничка студија пресека. Истраживање је спроведено на Неурохируршкој клиници Клиничког центра Србије у Београду.

3.2. ПОПУЛАЦИЈА КОЈА СЕ ИСТРАЖУЈЕ

Студијом је обухваћено 100 испитаника оба пола који су у периоду од 24 месеца били праћени и хируршки лечени од малигнух и бенигнух неурохируршких патоанатомских супстрата на Неурохируршкој клиници Клиничког центра Србије. Поступање са пацијентима као и сви експериментални поступци су се одвијали у складу са прописаним актима (Хелсиншком декларацијом) и принципима Добре клиничке праксе. Осим тога, пре почетка студије је добијена сагласност Етичког одбора Клиничког центра Србије (број 526/10).

3.3. УЗОРКОВАЊЕ

Студијски узорак је чинило:

- 1) 50 испитаника код којих је новооткривена и постављена дијагноза једног од малигнух тумора мозга: анапластични астроцитом градус III или Glioblastoma multiforme градус IV;
- 2) 50 испитаника са дијагнозом бенигнух тумора који су у поменутом периоду такође праћени и лечени на Неурохируршкој клиници Клиничког центра Србије.

Критеријуми за укључивање у студију

Истраживањем су били обухваћени испитаници узраста од 30-60 година оба пола код којих је малигни астроцитом визуелним методама дијагностикован и патохистолошким методама потврђен GR III и IV, или у сличају Glioblastoma multiforme градус IV. Код испитаника са бенигнух туморима мозга, критеријум за укључивање у студију је била дијагноза и патохистолошка потврда менингеома GR I и/или цисте мозга.

У истраживање су били укључени само пацијенти од којих је пре почетка студије био обезбеђен информисани и писани добровољни пристанак за учествовање у клиничкој студији.

Критеријуми за искључивање из студије

Из студије су били искључени сви пацијенти унутар старосне лимитације који имају психоргански синдром. Степен конгитивних способности и присуства деменције се утврђивао помоћу Mini-Mental State Examination (MMSE) скале. Из студије су били искључени сви пацијенти који су у периоду од две године пре почетка студије били на хемио или радиотерапији, као и пацијенти који су у било ком временском периоду били на хроничној имуносупресивној терапији из било ког разлога.

3.4. ВАРИЈАБЛЕ КОЈЕ СЕ МЕРЕ У СТУДИЈИ

Зависне варијабле

Месец дана, три месеца и шест месеци након спроведене хируршке интервенције код испитиваних пацијената су прикупљени узорци крви за одређивање концентрација следећих параметара:

1. укупни хомоцистеин,
2. витамин В12
3. фолна киселина (витамин В9),
4. маркери инфламације (С-реактивни протеин, фибриноген, прокалцитонин).

Осим тога одређиване су и рутинске биохемијске анализе:

- а) крвна слика,
- б) липидни профил,
- в) хепатограм,
- г) уреа и креатинин.

Независне варијабле

Пре почетка истраживања прикупили су се анамнестички подаци свих испитаника:

1. старост,
2. пол,
3. присутни коморбидитети,
4. тренутна фармакотерапија,
5. социо-економски подаци.

3.5. СНАГА СТУДИЈЕ И ВЕЛИЧИНА УЗОРКА

Прорачун укупног узорка је заснован на резултатима претходно објављене студије (91) у којој је праћена повезаност хомоцистеина, фолне киселине и витамина В12 са клиничком сликом пацијената са ректалним карциномом. За прорачун је коришћен Т-тест за везани узорак, двоструко, уз претпоставку алфа грешке од 0.05 и снаге студије 0.8 (бета грешка 0.2) и уз употребу адекватног рачунарског програма (92). Узимањем у обзир резултате наведене студије, укупан студијски узорак је прорачунат на најмање 84 пацијената. Имајући у виду могућност да је због типа испитиваног патоанатомског субстрата одређен број пацијената изузет из студије до њеног краја, укупан студијски узорак је утврђен на 100 пацијената.

3.6. СТАТИСТИЧКА АНАЛИЗА РЕЗУЛТАТА

За статистичку обраду резултата је коришћен статистички програм *SPSS 18.0 for Windows*. Подаци су били анализирани статистички и представљени табеларно и графички. Коришћене су дескриптивне статистичке методе (за опис параметара од значаја, у зависности од њихове природе: фреквенција, проценти, узорачка средња вредност, узорачка медијана, узорачка стандардна девијација, ранг и 95% интервали поверења), корелациона анализа и регресиона анализа података, при чему је зависна варијабла била концентрација хомоцистеина, витамина В12 и фолне киселине и осталих биохемијских анализа, а независне варијабле старост, пол, стадијум болести, присутни коморбидитети и остали анамнестички подаци. Регресионом анализом израчуната је и предиктивна вредност сваког од наведених зависних параметара.

IV

РЕЗУЛТАТИ

4. РЕЗУЛТАТИ

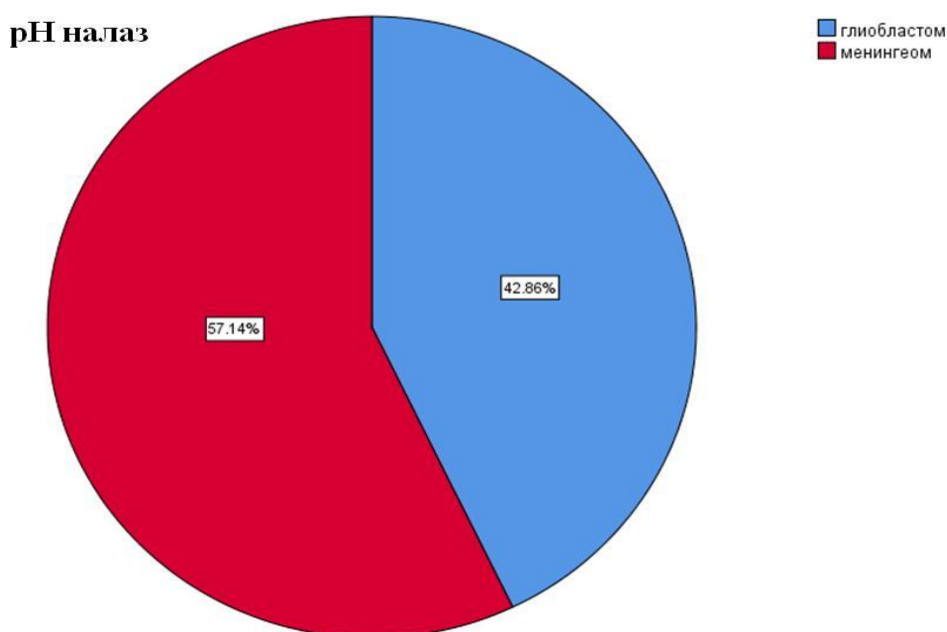
4. 1. Патохистолошке карактеристике тумора мозга

Од укупног броја пацијената 57.1 % пацијената било је са дијагнозом доброћудног тумора мозга - менингеом GR I и 42.9 % пацијената са дијагнозом малигног тумора мозга (анапластични астроцитом GR III и глиобластома мултиформе GR IV) (Табела 1, Графикон 1). У даљем тексту претходно наведени облик тумора (анапластични астроцитом GR III и глиобластома мултиформе GR IV) водиће се под називом Глиобластома.

Табела 1. Број пацијената са дијагностикованим малигним и бенигним неурохируршких патоанатомских супстрата на Неурохируршкој клиници, Клиничког центра Србије.

<i>pH</i> налаз	%
Глиобластом	42.9
Менингеом	57.1
Укупно	100.0

Графикон 1. Број пацијената са дијагностикованим малигним и бенигним неурохируршких патоанатомских супстрата на Неурохируршкој клиници, Клиничког центра Србије.



4. 2. Дистрибуција пацијената према полу, старости и врсти малигнух и бенигнух тумора мозга

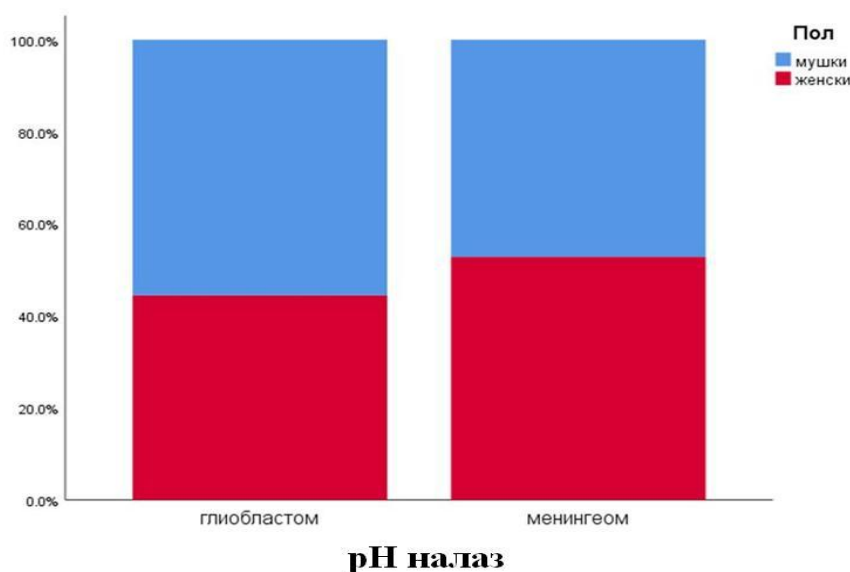
Из групације испитаника мушког пола, код 55.6 % је дијагностикован глиобластом, а 47.2 % менингеом, док је од испитаника женског пола, 44.4 % имало глиобластом, а 52.8% менингеом.

Статистичком анализом полне дистрибуције за глиобластом и менингеом налази се да је $p > 0.05$, што говори у прилог да не постоји статистички значајна разлика између мушкараца и жена оболелих од глиобластома и менингеома ове клиничке студије (Табела 2, Графикон 2).

Табела 2. Полна дистрибуција пацијената код малигнух и бенигнух тумора мозга.

<i>pH</i> налаз	Пол		Укупно	<i>p</i>	
	Мушки	Женски			
Глиобластом	N	15	12	27	> 0.05
	%	55.6%	44.4%	100.0%	
Менингеом	N	17	19	36	> 0.05
	%	47.2%	52.8%	100.0%	
Укупно	N	32	31	63	> 0.05
	%	50.8%	49.2%	100.0%	

Графикон 2. Полна дистрибуција пацијената код малигнух и бенигнух тумора мозга.



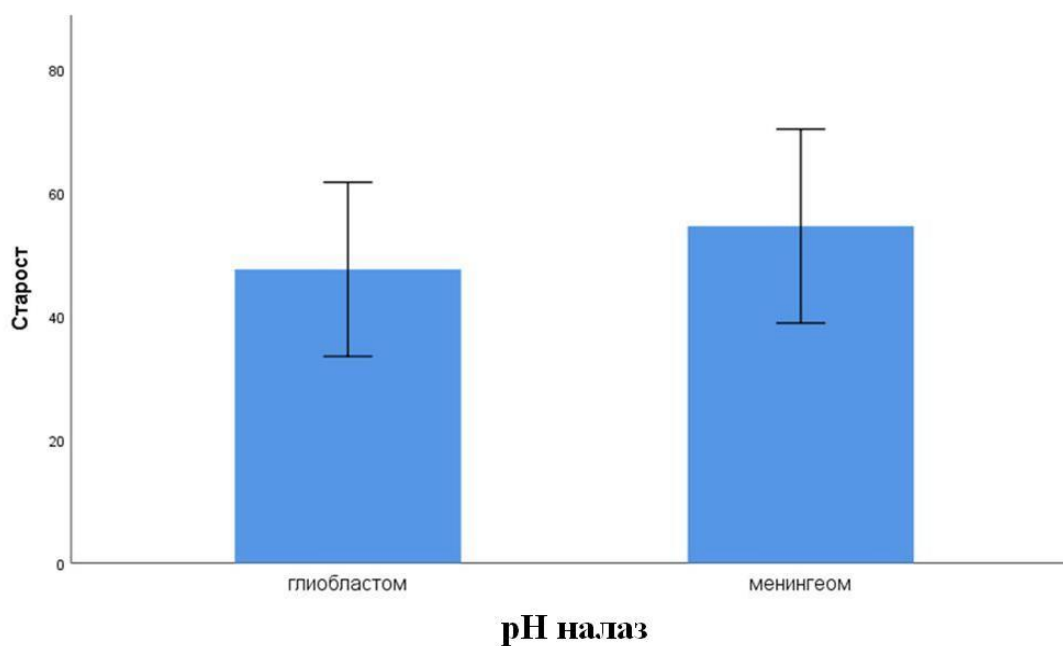
У Табели 3. и на Графикону 3. приказана је старост испитаника у односу на форму болести. Просечна старост испитаника оболелих од менингеома износила је 54.57 ± 15.73 , док код оболелих од глиобластома 47.65 ± 14.13 .

Статистичком анализом старосне дистрибуције за глиобластом и менингеом налази се да је $p > 0.05$, што говори у прилог да не постоји статистички значајна разлика у старосној дистрибуцији испитаника оболелих од наведених форми болести ове клиничке студије у посматраном временском периоду.

Табела 3. Старосна дистрибуција испитаника оболелих од малигних и бенигних тумора мозга у посматраном периоду.

Старост						
рН налаз	<i>N</i>	<i>Mean</i>	<i>Std. Deviation</i>	<i>Minimum</i>	<i>Maximum</i>	<i>p</i>
Глиобластом	26	47.65	14.128	20	70	> 0.05
Менингеом	36	54.67	15.730	24	80	> 0.05
Укупно	62	51.73	15.360	20	80	> 0.05

Графикон 3. Просечна старост испитаника у односу на форму болести (глиобластом/менингеом).



4. 3. Дистрибуција параметара у оквиру рутинских биохемијских анализа код испитаника различитих форми тумора мозга

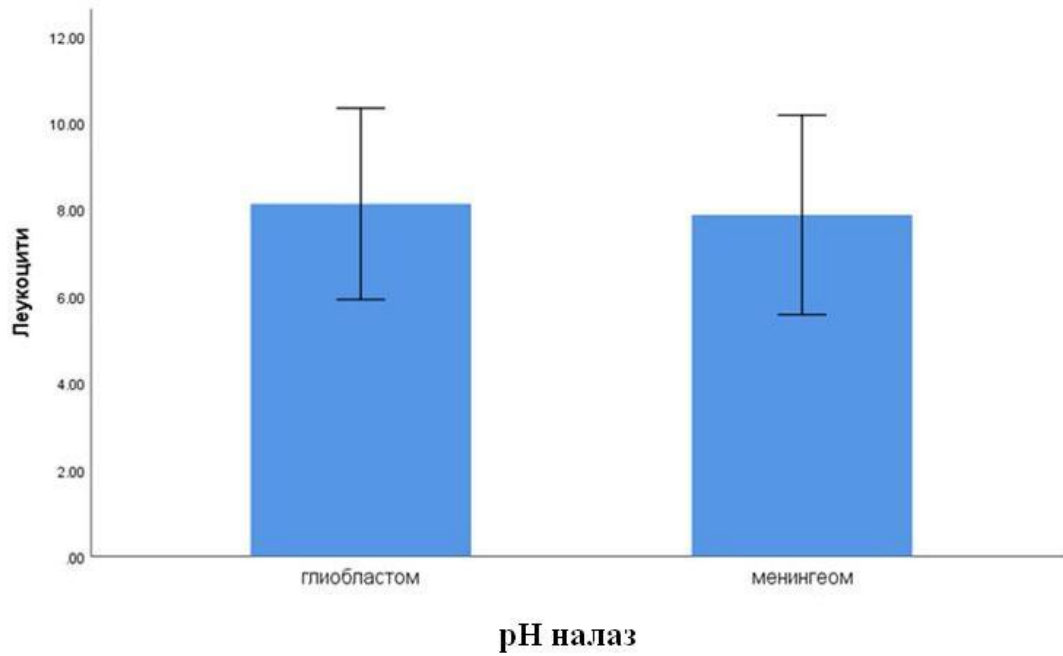
У Табели 4. и на Графиконима 4., 5., 6. и 7. приказана је дистрибуција леукоцита, еритроцита, хемоглобина и тромбоцита у односу на форму болести. Просечна заступљеност леукоцита код испитаника оболелих од глиобластома износила је 8.13 ± 2.21 , док код менингеома 7.88 ± 2.30 . Просечна заступљеност еритроцита код испитаника оболелих од глиобластома износила је 4.47 ± 0.66 , док код менингеома 4.48 ± 0.70 . Такође, просечна заступљеност хемоглобина код испитаника оболелих од глиобластома износила је 134.78 ± 13.73 , док код менингеома 134.06 ± 14.20 . Просечна заступљеност тромбоцита код испитаника оболелих од глиобластома износила је 235.00 ± 44.05 , док код менингеома 273.08 ± 111.98 .

Статистичком анализом дистрибуције уобличених ћелијских елемената (леукоцита, еритроцита, хемоглобина и тромбоцита) код испитаника оболелих од глиобластома и менингеома налази се да је $p > 0.05$, што говори у прилог да не постоји статистички значајна разлика у дистрибуцији наведених уобличених ћелијских елемената код испитаника оболелих од наведених форми болести ове клиничке студије у посматраном временском периоду.

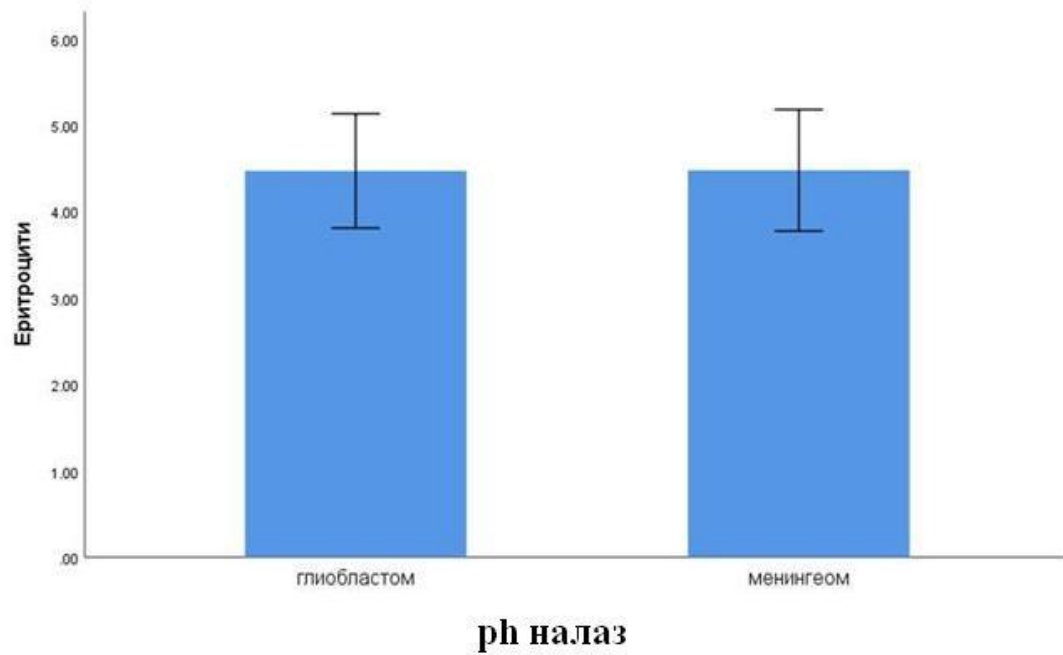
Табела 4. Дистрибуција уобличених ћелијских елемената (леукоцита, еритроцита, хемоглобина и тромбоцита) код испитаника различитих форми тумора мозга.

<i>pH</i> налаз		<i>N</i>	<i>Mean</i>	<i>Std. Deviation</i>	<i>Minimum</i>	<i>Maximum</i>	<i>p</i>
Леукоцити	Глиобластом	27	8.13	2.21	4.70	12.40	> 0.05
	Менингеом	36	7.88	2.30	3.90	12.40	
	Укупно	63	7.99	2.25	3.90	12.40	
Еритроцити	Глиобластом	27	4.47	0.66	3.66	5.81	> 0.05
	Менингеом	36	4.48	0.70	3.05	5.72	
	Укупно	63	4.48	0.68	3.05	5.81	
Хемоглобин	Глиобластом	27	134.78	13.73	111.00	159.00	> 0.05
	Менингеом	36	134.06	14.20	111.00	158.00	
	Укупно	63	134.37	13.90	111.00	159.00	
Тромбоцити	Глиобластом	27	235.00	44.05	171.00	305.00	> 0.05
	Менингеом	36	273.08	111.98	147.00	527.00	
	Укупно	63	256.76	90.85	147.00	527.00	

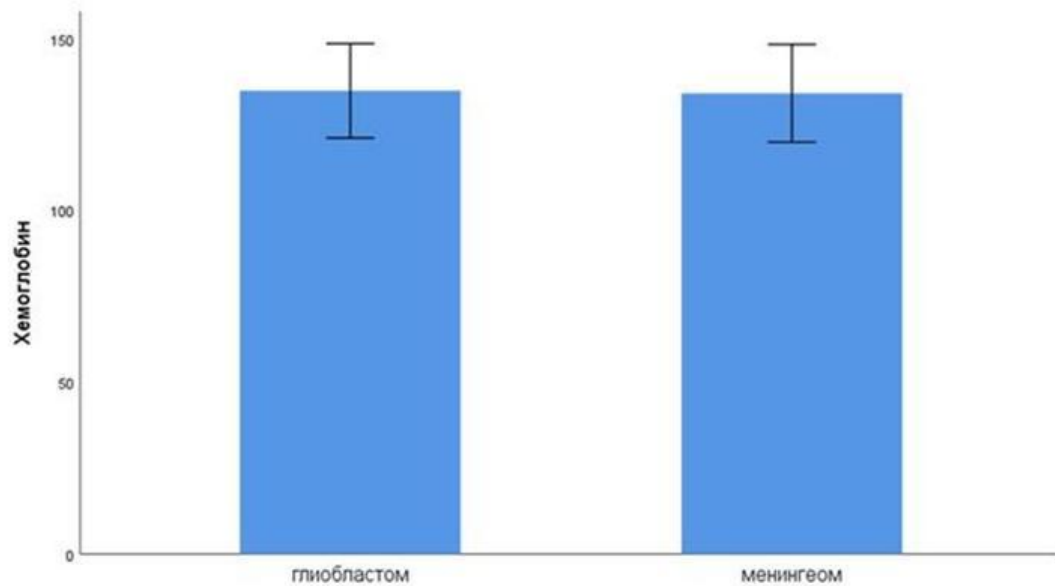
Графикон 4. Дистрибуција леукоцита код испитаника различитих форми тумора мозга.



Графикон 5. Дистрибуција еритроцита код испитаника различитих форми тумора мозга.

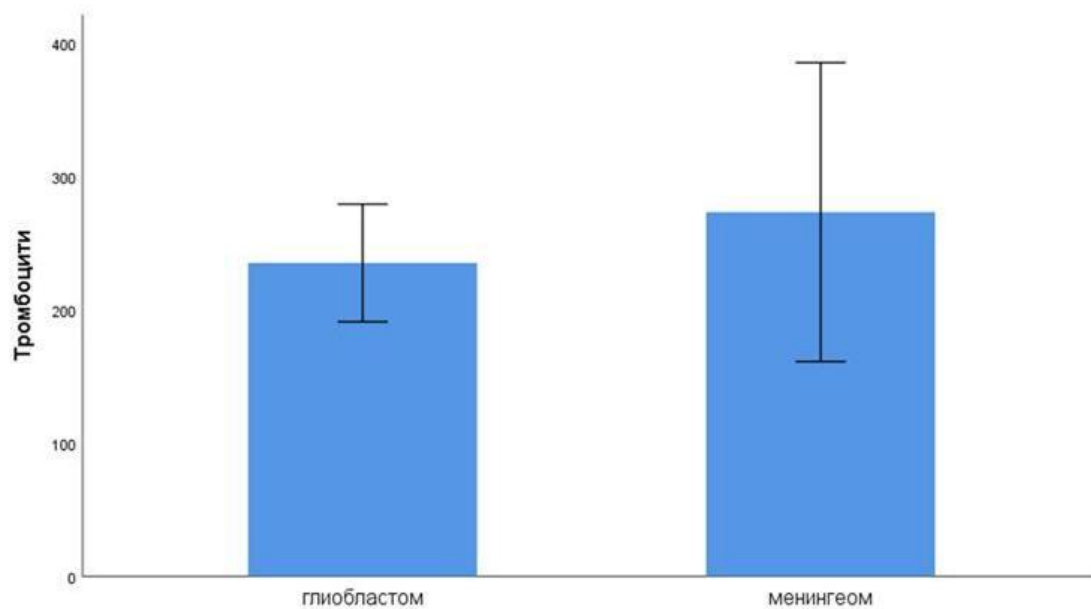


Графикон 6. Дистрибуција хемоглобина код испитаника различитих форми тумора мозга.



рН налаз

Графикон 7. Дистрибуција тромбоцита код испитаника различитих форми тумора мозга.



рН налаз

У Табели 5. и на Графиконима 8. и 9. приказана је дистрибуција холестерола и триглицерида у односу на форму болести. Просечна заступљеност триглицерида код испитаника оболелих од глиобластома износила је 6.23 ± 0.78 , док код менингеома 6.07 ± 0.84 . Насупрот триглицеридима, просечна заступљеност холестерола код испитаника оболелих од глиобластома износила је 2.88 ± 0.85 , док код менингеома 4.48 ± 0.70 . Такође, просечна заступљеност хемоглобина код испитаника оболелих од глиобластома износила је 134.78 ± 13.73 , док код менингеома 3.55 ± 1.22 .

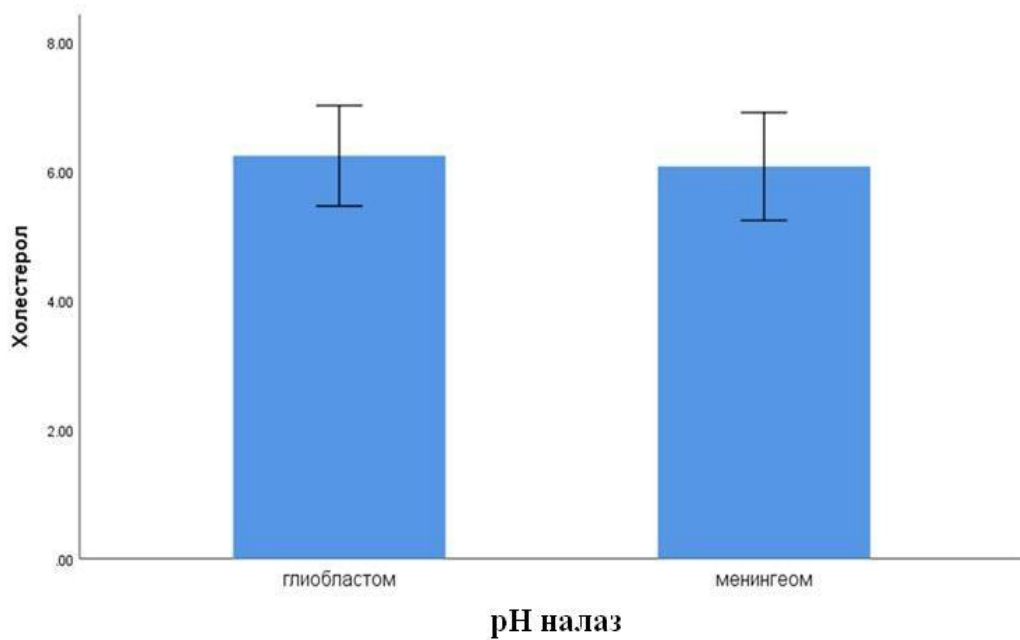
Статистичком анализом дистрибуције основних елемената липидног статуса - холестерола код испитаника оболелих од глиобластома и менингеома налази се да је $p > 0.05$, што говори у прилог да не постоји статистички значајна разлика у дистрибуцији наведеног липидног елемената код испитаника оболелих од наведених форми болести.

За разлику од холестерола, статистичком анализом дистрибуције триглицерида код испитаника оболелих од глиобластома и менингеома налази се да је $p < 0.05$, што говори у прилог да постоји статистички значајна разлика у дистрибуцији наведеног основног липидног елемената код испитаника оболелих од наведених форми болести у посматраном временском периоду.

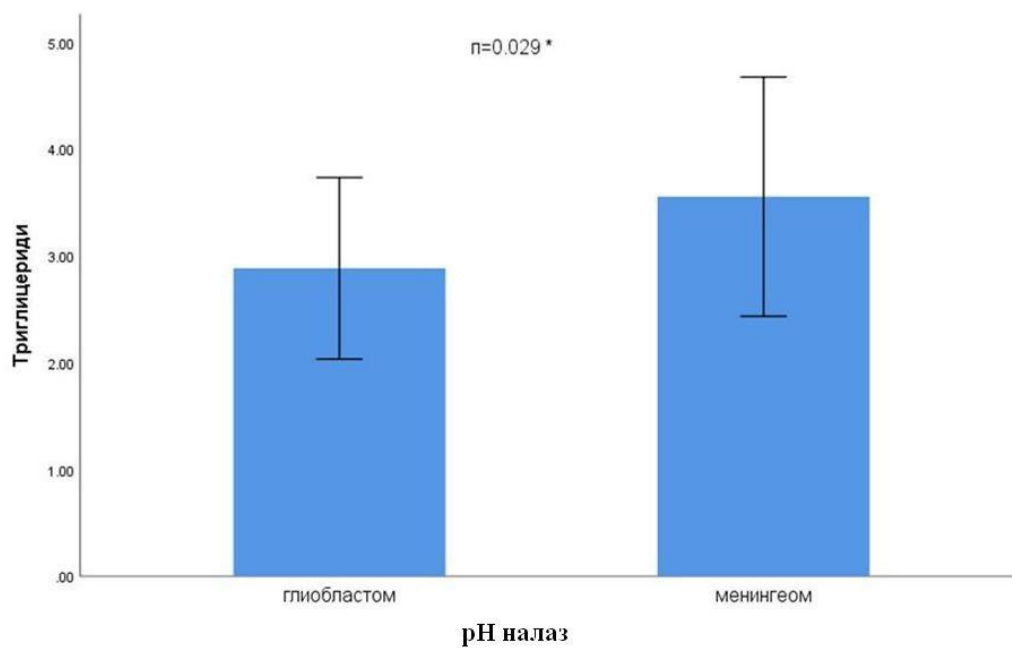
Табела 5. Дистрибуција основних елемената липидног статуса (триглицерида и холестерола) код испитаника различитих форми тумора мозга.

<i>pH</i> налаз		<i>N</i>	<i>Mean</i>	<i>Std. Deviation</i>	<i>Minimum</i>	<i>Maximum</i>	<i>p</i>
Триглицериди	<i>Глиобластом</i>	27	6.23	0.78	5.10	8.10	< 0.05
	<i>Менингеом</i>	36	6.07	0.84	4.90	7.90	
	<i>Укупно</i>	63	6.14	0.81	4.90	8.10	
Холестерол	<i>Глиобластом</i>	27	2.88	0.85	1.14	4.21	> 0.05
	<i>Менингеом</i>	36	3.55	1.12	1.70	7.20	
	<i>Укупно</i>	63	3.27	1.06	1.14	7.20	

Графикон 8. Дистрибуција основних елемената липидног статуса - холестерола код испитаника различитих форми тумора мозга.



Графикон 9. Дистрибуција основних елемената липидног статуса - триглицерида код испитаника различитих форми тумора мозга.



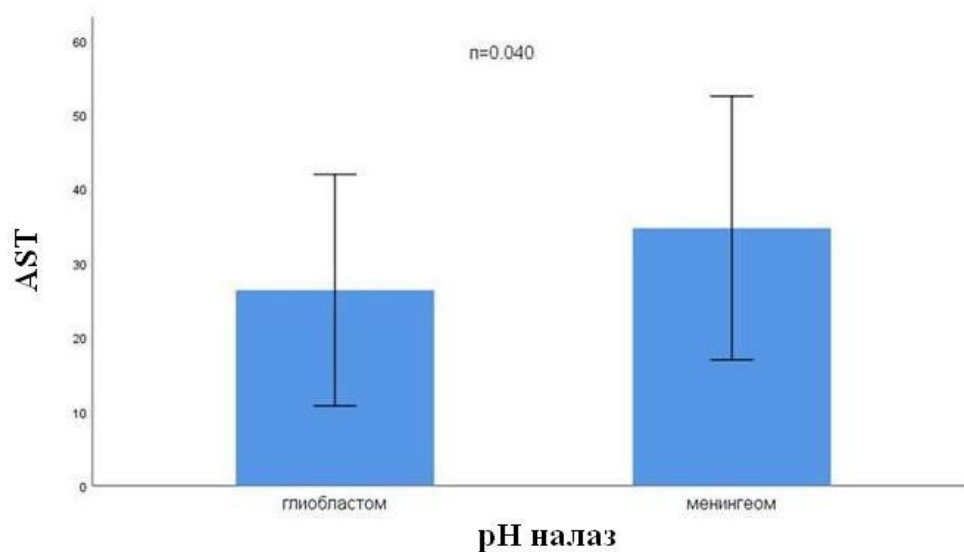
У Табели 6. и на Графиконима 10., 11., и 12. приказана је дистрибуција аланин аминок-трансферазе (ALT), аспартат-аминотрансаминазе (AST) и алкалне фосфатазе (ALP) у односу на форму болести тумора мозга. Просечна заступљеност AST код испитаника оболелих од глиобластома износила је 26.37 ± 15.60 , док код менингеома 34.72 ± 17.78 . Насупрот аспартат-аминотрансаминазе, просечна заступљеност ALT код испитаника оболелих од глиобластома износила је 48.59 ± 26.75 , док код менингеома 57.97 ± 26.51 . Просечна заступљеност ALP код испитаника оболелих од глиобластома износила је 77.48 ± 24.05 , док код менингеома 83.06 ± 24.10 .

Статистичком анализом дистрибуције AST код испитаника оболелих од глиобластома и менингеома налази се да је $p < 0.05$, што говори у прилог да постоји статистички значајна разлика у дистрибуцији наведеног трансаминазе код испитаника оболелих од наведених форми болести ове клиничке студије у посматраном временском периоду. За разлику од AST, статистичком анализом дистрибуције ALT и ALP код испитаника оболелих од глиобластома и менингеома налази се да је $p > 0.05$, што говори у прилог да не постоји статистички значајна разлика у дистрибуцији наведених елемената код испитаника оболелих од бенигнух и малигнух тумора мозга.

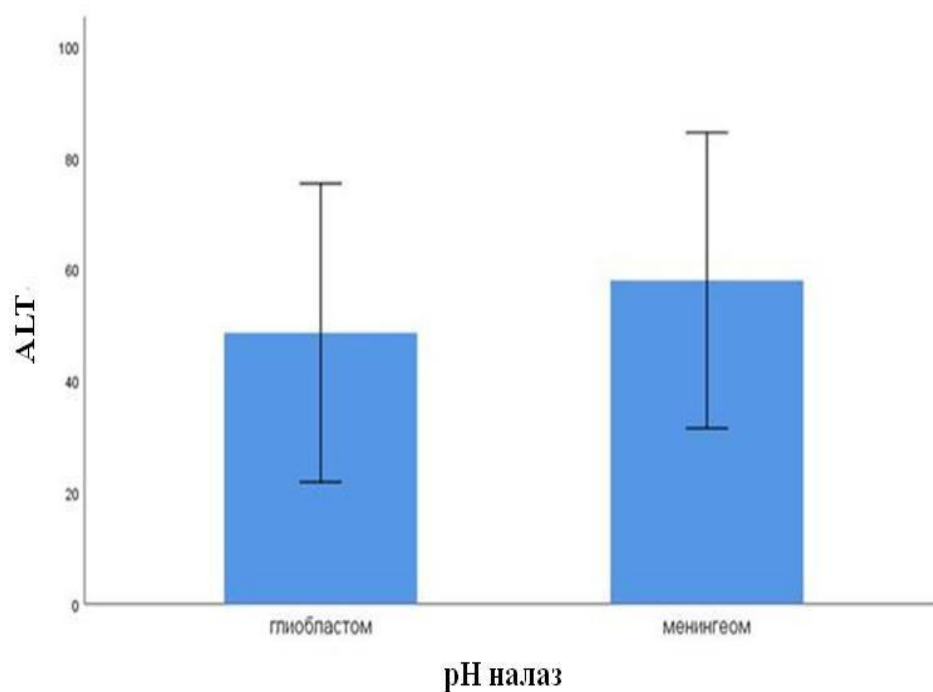
Табела 6. Дистрибуција аланин-аминотрансферазе (ALT), аспартат аминок-трансферазе (AST) и алкалне фосфатазе (ALP) код испитаника различитих форми тумора мозга.

<i>pH</i> налаз		<i>N</i>	<i>Mean</i>	<i>Std. Deviation</i>	<i>Minimum</i>	<i>Maximum</i>	<i>p</i>
AST	<i>Глиобластом</i>	27	26.37	15.60	7	62	< 0.05*
	<i>Менингеом</i>	36	34.72	17.78	14	67	
	<i>Укупно</i>	63	31.14	17.26	7	67	
ALT	<i>Глиобластом</i>	27	48.59	26.75	12	98	> 0.05
	<i>Менингеом</i>	36	57.97	26.51	18	98	
	<i>Укупно</i>	63	53.95	26.81	12	98	
ALP	<i>Глиобластом</i>	27	77.74	24.05	34	119	> 0.05
	<i>Менингеом</i>	36	83.06	24.10	35	120	
	<i>Укупно</i>	63	80.78	24.03	34	120	

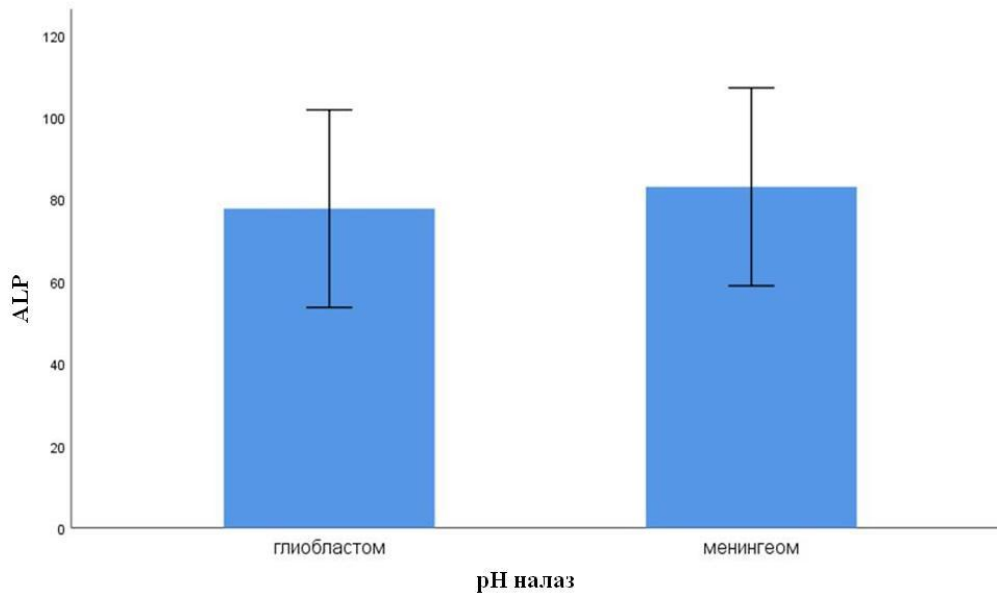
Графикон 10. Дистрибуција аспартат-аминотрансминазе (AST) код испитаника оболелих од менингеома и глиобластома.



Графикон 11. Дистрибуција аланин-аминотрансферазе (ALT) код испитаника оболелих од менингеома и глиобластома.



Графикон 12. Дистрибуција алкалне фосфатазе (ALP) код испитаника оболелих од менингеома и глиобластома.



4. 4. Дистрибуција маркера инфламације код испитаника различитих форми тумора мозга

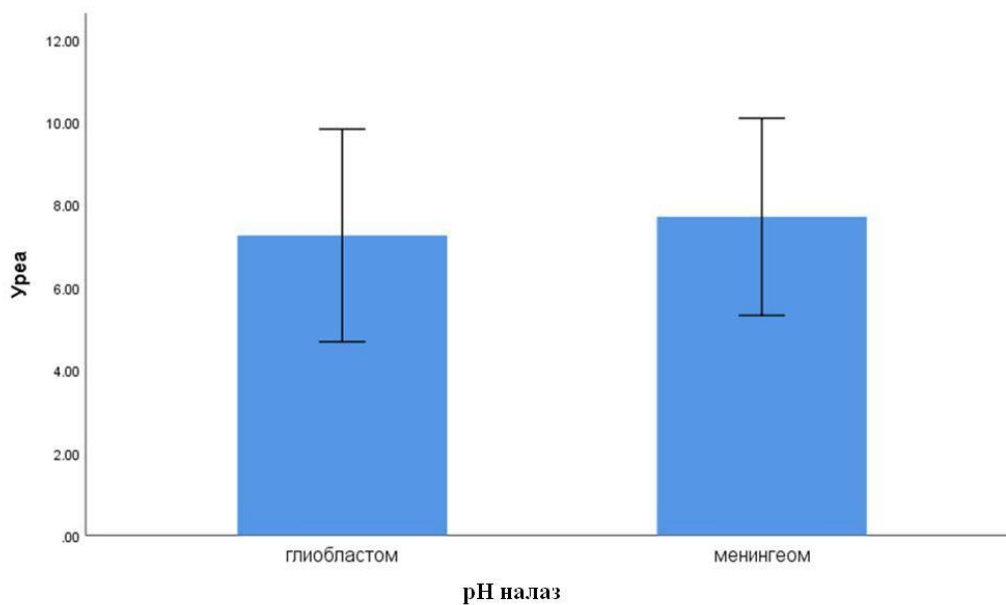
У Табели 7. и на Графиконима 13., 14., 15., 16. и 17. приказана је дистрибуција урее, креатинина, С – реактивног протеина, фибриногена и прокалцитонина у односу на форму болести тумора мозга. Просечна заступљеност урее код испитаника оболелих од глиобластома износила је 7.26 ± 2.57 , док код менингеома 7.71 ± 2.38 . Насупрот урее, просечна заступљеност креатинина код испитаника оболелих од глиобластома износила је 74.65 ± 16.89 , док код менингеома 82.48 ± 25.08 . Просечна заступљеност С – реактивног протеина код испитаника оболелих од глиобластома износила је 2.57 ± 2.57 , док код менингеома 4.49 ± 5.76 . Код фибриногена просечна заступљеност износила је 3.20 ± 1.00 код глиобластома, док код менингеома 3.68 ± 1.04 . Такође, просечна заступљеност прокалцитонина код испитаника оболелих од глиобластома износила је 1.56 ± 0.43 , док код менингеома 1.74 ± 0.66 .

Статистичком анализом дистрибуције урее, креатинина, С – реактивног протеина, фибриногена и прокалцитонина код испитаника оболелих од глиобластома и менингеома налази се да је $p > 0.05$, што говори у прилог да не постоји статистички значајна разлика у дистрибуцији наведених елемената код испитаника оболелих од глиобластома и менингеома у посматраном временском периоду.

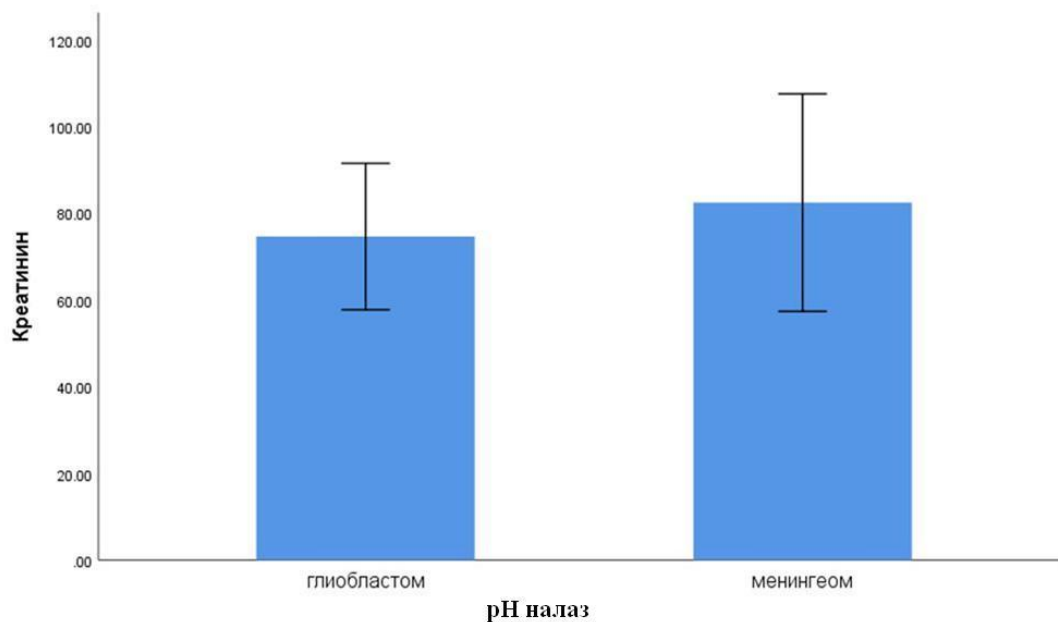
Табела 7. Дистрибуција уреe, креатинина, С – реактивног протеина, фибриногена и прокалцитонина код испитаника оболелих од глиобластома и менингеома.

<i>Ph</i> налаз		<i>N</i>	<i>Std.</i>				<i>p</i>
			<i>Mean</i>	<i>Deviation</i>	<i>Minimum</i>	<i>Maximum</i>	
Уреа	Глиобластом	27	7.26	2.57	4.00	12.60	<i>p</i> > 0.05
	Менингеом	36	7.71	2.38	3.50	12.60	
	Укупно	63	7.51	2.46	3.50	12.60	
Креатинин	Глиобластом	27	74.65	16.89	55.90	127.10	<i>p</i> > 0.05
	Менингеом	36	82.48	25.08	51.90	143.20	
	Укупно	63	79.12	22.13	51.90	143.20	
С-реактивни протеин	Глиобластом	27	2.57	2.57	0.80	10.20	<i>p</i> > 0.05
	Менингеом	36	4.49	5.76	0.70	31.30	
	Укупно	63	3.67	4.74	0.70	31.30	
Фибриноген	Глиобластом	27	3.20	1.00	1.70	5.20	<i>p</i> > 0.05
	Менингеом	36	3.68	1.04	1.07	5.20	
	Укупно	63	3.48	1.05	1.07	5.20	
Прокалцитонин	Глиобластом	27	1.56	0.43	0.90	2.40	<i>p</i> > 0.05
	Менингеом	36	1.74	0.66	0.60	3.20	
	Укупно	63	1.67	0.58	0.60	3.20	

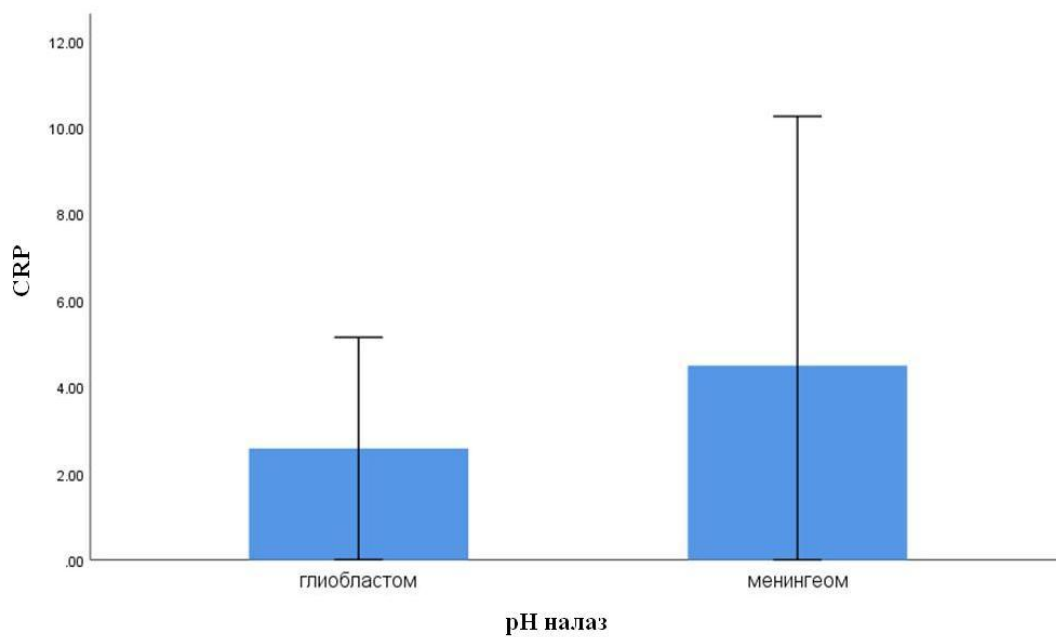
Графикон 13. Дистрибуција урее код испитаника оболелих од менингеома и глиобластома.



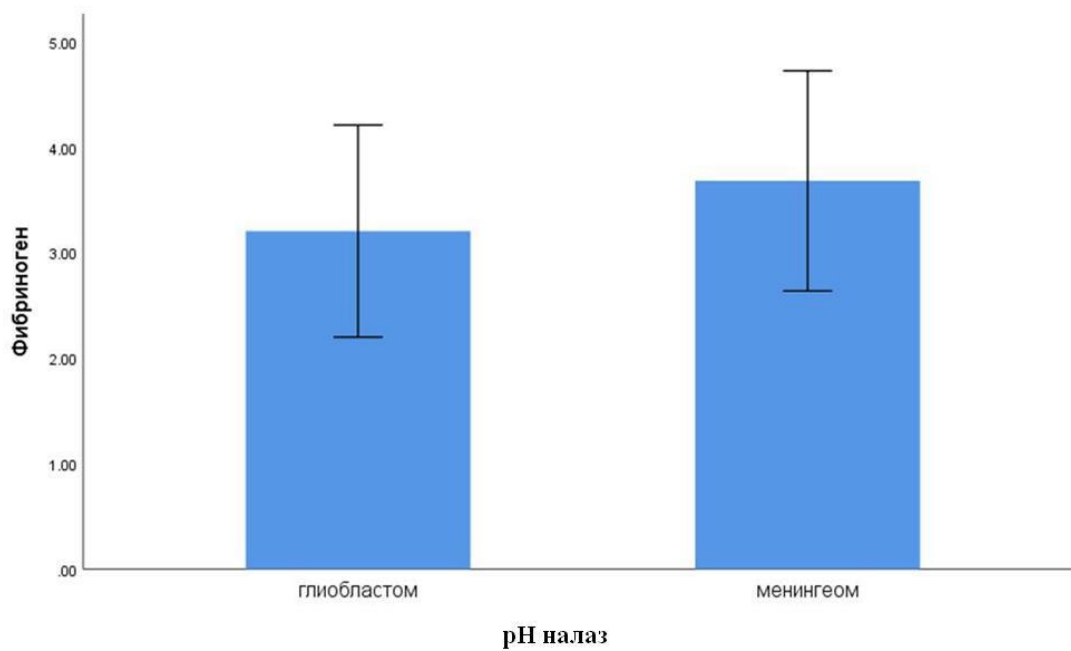
Графикон 14. Дистрибуција креатинина код испитаника оболелих од менингеома и глиобластома.



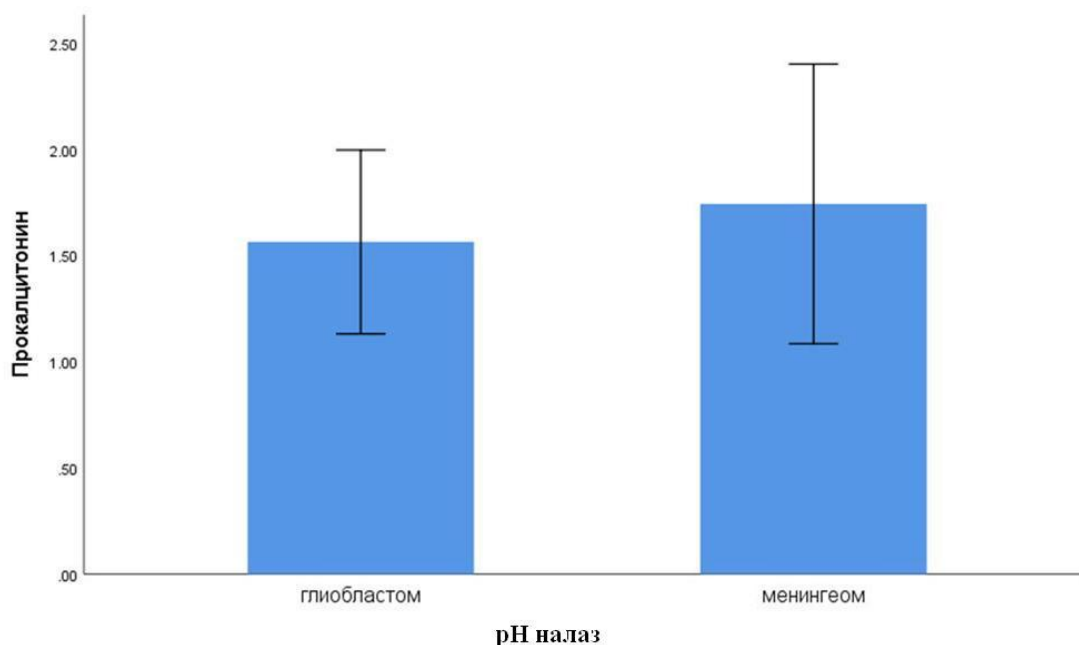
Графикон 15. Дистрибуција С-реактивног протеина код испитаника оболелих од менингеома и глиобластома.



Графикон 16. Дистрибуција фибриногена код испитаника оболелих од менингеома и глиобластома.



Графикон 17. Дистрибуција прокалцитонна код испитаника оболелих од менингеома и глиобластома.



4. 5. Појединачно и међусобно поређење вредности укупног хомоцистеина, фолне киселине и витамина В12 преоперативно, месец дана, три и шест месеци након операције код испитаника са малигним и бенигним тумором мозга

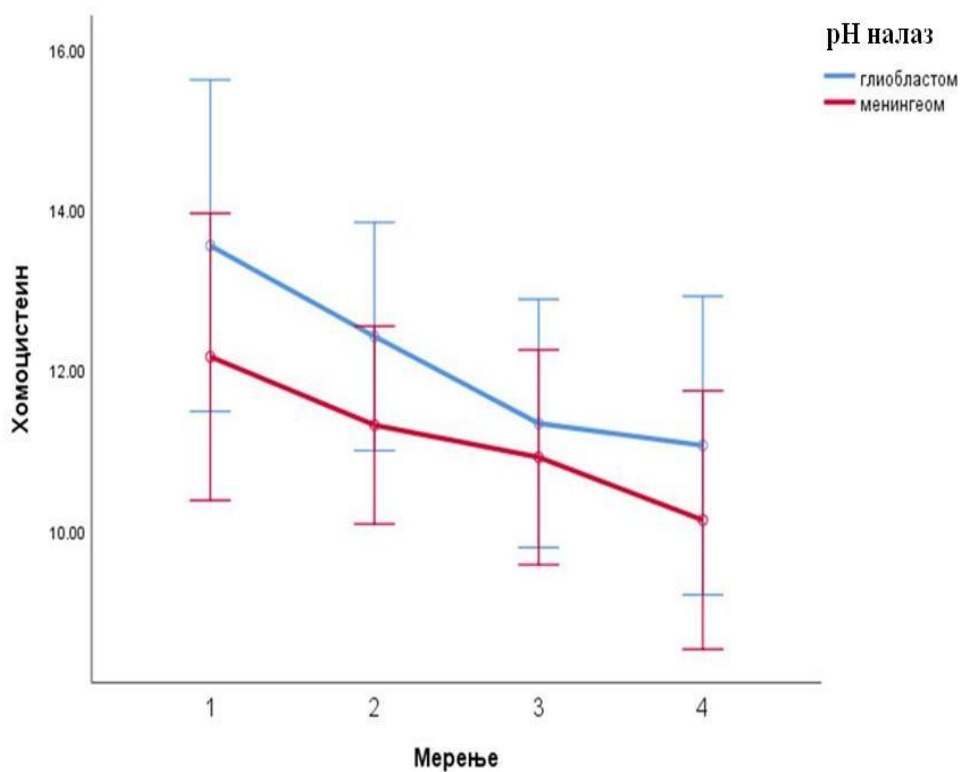
У Табели 8. и на Графикону 18. приказане су просечне вредности и поређење укупног хомоцистеина преоперативно, месец дана, три и шест месеци након операције код испитаника са глиобластомом и менингеомом.

Статистичком анализом приказано је постојање статистичке значајне разлике укупног хомоцистеина између четири временска интервала код свих пацијената заједно ($F=6.313$; $p < 0.001$; $\text{Eta}_{\text{part}}^2=0.091$), међутим нема постојања статистички значајног утицаја рН налаза бенигне и малигне форме тумора мозга на свако мерење посебно ($F=0.269$; $p > 0.05$; $\text{Eta}_{\text{part}}^2=0.004$), као ни код компарације појединачног мерења са рН налазом малигне и бенигне форме тумора мозга ($p > 0.05$).

Табела 8. Поређење укупног хомоцистеина преоперативно, месец дана, три и шест месеци након операције код испитаника са малигним и бенигним тумором мозга. Статистичка значајност $p < 0.001$ се односи на поређење укупног хомоцистеина између сва четири временска интервала код свих пацијената заједно.

<i>Ph</i> налаз		<i>N</i>	<i>Std.</i>			<i>p</i>	
			<i>Mean</i>	<i>Deviation</i>	<i>Minimum</i>		<i>Maximum</i>
Глиобластом	Хомоцистеин преоперативно	27	13.55	3.20	26.44	3.20	$p < 0.001^*$
	Хомоцистеин 1m	27	12.41	6.71	27.58	6.71	
	Хомоцистеин 3m	27	11.33	6.09	23.70	6.09	
	Хомоцистеин 6m	27	11.05	5.39	27.01	5.39	
Менингеом	Хомоцистеин преоперативно	36	12.16	2.61	30.21	2.61	$p < 0.001^*$
	Хомоцистеин 1m	36	11.31	6.90	20.12	6.90	
	Хомоцистеин 3m	36	10.91	2.57	21.40	2.57	
	Хомоцистеин 6m	36	10.12	3.10	23.88	3.10	
Укупно	Хомоцистеин преоперативно	63	12.75	2.61	30.21	2.61	$p < 0.001^*$
	Хомоцистеин 1m	63	11.78	6.71	27.58	6.71	
	Хомоцистеин 3m	63	11.09	2.57	23.70	2.57	
	Хомоцистеин 6m	63	10.52	3.10	27.01	3.10	

Графикон 18. Поређење укупног хомоцистеина преоперативно, месец дана, три и шест месеци након операције код испитаника са глиобластомом и менингеомом.



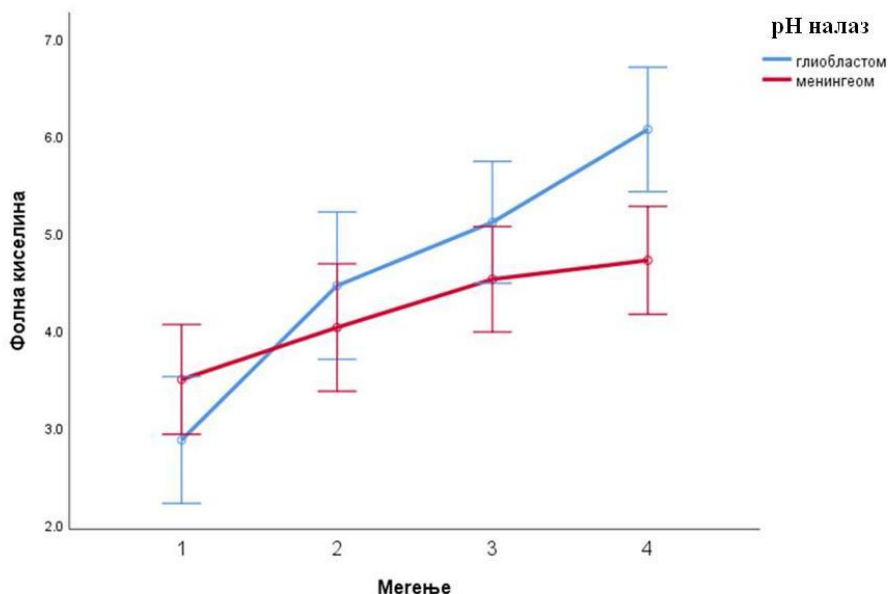
У Табели 9. и на Графикону 19. приказане су просечне вредности и поређење фолне киселине преоперативно, месец дана, три и шест месеци након операције код испитаника са глиобластомом и менингеомом.

Статистичком анализом приказано је постојање статистичке значајне разлике просечних вредности фолне киселине између четири времена код свих пацијената заједно ($F=40.343$; $p < 0.001$; $\text{Eta}_{\text{part}}^2=0.398$), као и постојање статистички значајног утицаја рН налаза бенигне и малигне форме тумора мозга на свако мерење посебно ($F=7.467$; $p < 0.001$; $\text{Eta}_{\text{part}}^2=0.109$), као и код компарације појединачног мерења са рН налазом малигне и бенигне форме тумора мозга ($p < 0.001$).

Табела 9. Поређење вредности фолне киселине преоперативно, месец дана, три и шест месеци након операције код испитаника са малигним и бенигним тумором мозга.

<i>Ph</i> налаз		<i>N</i>	<i>Std.</i>			<i>p</i>	
			<i>Mean</i>	<i>Deviation</i>	<i>Minimum</i>		<i>Maximum</i>
Глиобластом	Фолна киселина преоперативно	27	2.87	1.90	0.6	9.7	p < 0.001*
	Фолна кис. 1m	27	4.45	2.54	1.1	9.2	
	Фолна кис. 3m	27	5.11	1.95	1.4	8.5	
	Фолна кис. 6m	27	6.06	1.76	2.3	9.1	
Менингеом	Фолна киселина преоперативно	36	3.49	1.52	1.3	6.7	p < 0.001*
	Фолна кис. 1m	36	4.02	1.40	1.8	7.2	
	Фолна кис. 3m	36	4.52	1.33	2.1	7.9	
	Фолна кис. 6m	36	4.71	1.59	1.9	7.9	
Укупно	Фолна киселина преоперативно	63	3.22	1.71	0.6	9.7	p < 0.001*
	Фолна кис. 1m	63	4.21	1.96	1.1	9.2	
	Фолна кис. 3m	63	4.77	1.64	1.4	8.5	
	Фолна кис. 6m	63	5.29	1.78	1.9	9.1	

Графикон 19. Поређење вредности фолне киселине преоперативно, месец дана, три и шест месеци након операције код испитаника са глиобластомом и менингеомом.



У Табели 10. и на Графикону 20. приказане су просечне вредности витамина В12 као и поређење наведеног вредности наведеног витамина преоперативно, месец дана, три и шест месеци након операције код испитаника са глиобластомом и менингеомом.

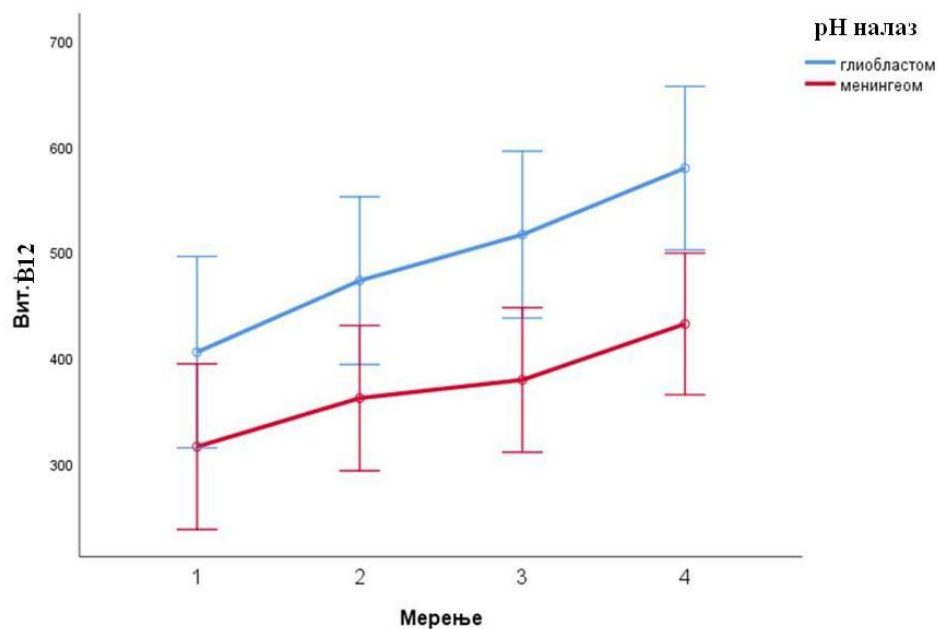
Статистичком анализом приказано је постојање статистичке значајне разлике витамина В12 између четири временска периода код свих пацијената заједно ($p < 0.001$).

Такође, постојање статистички значајног утицаја рН налаза бенигне и малигне форме тумора мозга на свако мерење посебно ($p < 0.001$), као и код компарације појединачног мерења са рН налазом малигне и бенигне форме тумора мозга ($p < 0.001$).

Табела 10. Поређење вредности витамина В12 преоперативно, месец дана, три и шест месеци након операције код испитаника са малигним и бенигним тумором мозга.

<i>Ph</i> налаз		<i>N</i>	<i>Std.</i>			<i>p</i>	
			<i>Mean</i>	<i>Deviation</i>	<i>Minimum</i>		<i>Maximum</i>
Глиобластом	Витамин В12 преоперативно	27	405.5	317.2	157	1684	p < 0.001*
	Витамин В12 1m	27	473.0	271.9	192	1584	
	Витамин В12 3m	27	516.4	266.1	152	1717	
	Витамин В12 6m	27	579.2	254.9	171	1627	
Менингеом	Витамин В12 преоперативно	36	316.2	145.9	168	980	p < 0.001*
	Витамин В12 1m	36	362.1	137.4	197	870	
	Витамин В12 3m	36	379.2	143.5	190	952	
	Витамин В12 6m	36	432.1	148.1	189	841	
Укупно	Витамин В12 преоперативно	63	354.4	237.0	157	1684	p < 0.001*
	Витамин В12 1m	63	409.6	211.5	192	1584	
	Витамин В12 3m	63	438.0	214.4	152	1717	
	Витамин В12 6m	63	495.2	212.2	171	1627	

Графикон 20. Поређење вредности витамина В12 преоперативно, месец дана, три и шест месеци након операције код испитаника са глиобластомом и менингеомом.



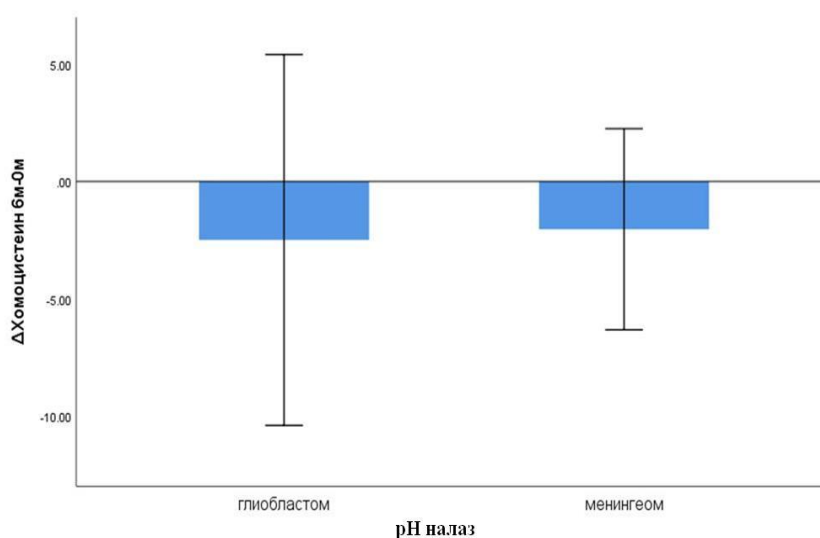
У Табели 11. и на Графиконима 21., 22. и 23. приказано је поређење вредности укупног хомоцистеина, фолне киселине и витамина В12 у четири различита временска периода (преоперативно, месец дана, три и шест месеци) након операције код испитаника са глиобластомом и менингеомом

Статистичком анализом приказано је постојање статистичке значајне разлике фолне киселине ($p < 0.001$).

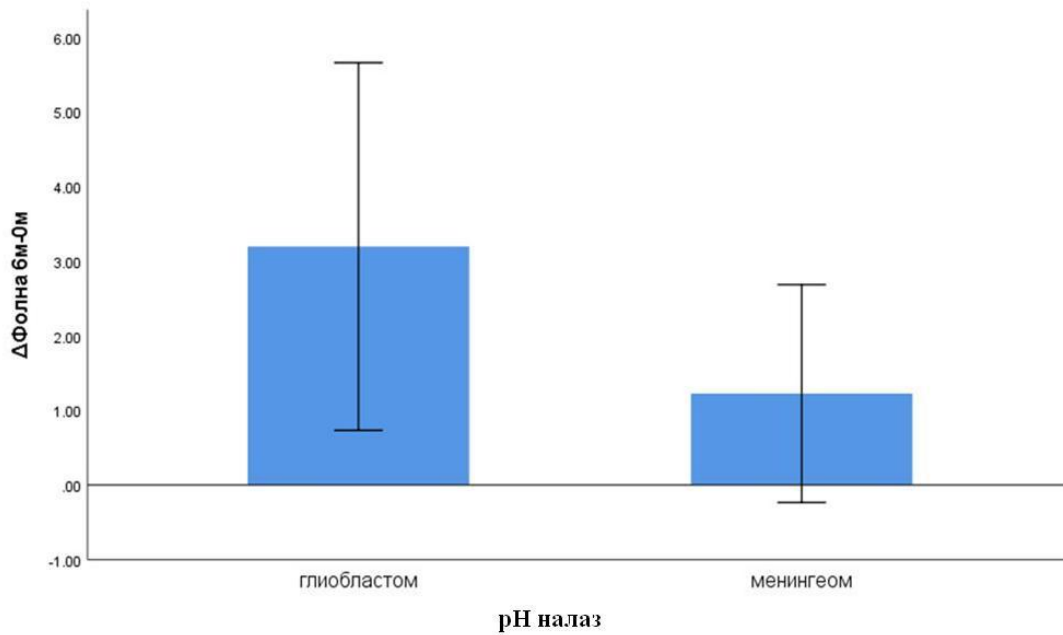
Табела 11. Поређење вредности укупног хомоцистеина, фолне киселине и витамина В12 преоперативно, месец дана, три и шест месеци након операције код испитаника са малигним и бенигним тумором мозга.

рН налаз		N	Std.			p	
			Mean	Deviation	Minimum		Maximum
Δ Хомоцистеин 6т-0т	Глиобластом	27	-2.49	-18.04	7.91	12.97	> 0.05
	Менингеом	36	-2.04	-15.91	4.29	5.70	
	Укупно	63	-2.23	-18.04	6.05	12.97	
Δ Фолна киселина 6т-0т	Глиобластом	27	3.20	-5.00	2.46	6.80	<0.001*
	Менингеом	36	1.23	-1.40	1.46	4.40	
	Укупно	63	2.07	-5.00	2.17	6.80	
Δ Витамин В12 6т-0т	Глиобластом	27	173.74	-666.00	249.02	628.00	> 0.05
	Менингеом	36	115.95	-139.00	131.16	523.00	
	Укупно	63	140.72	-666.00	191.17	628.00	

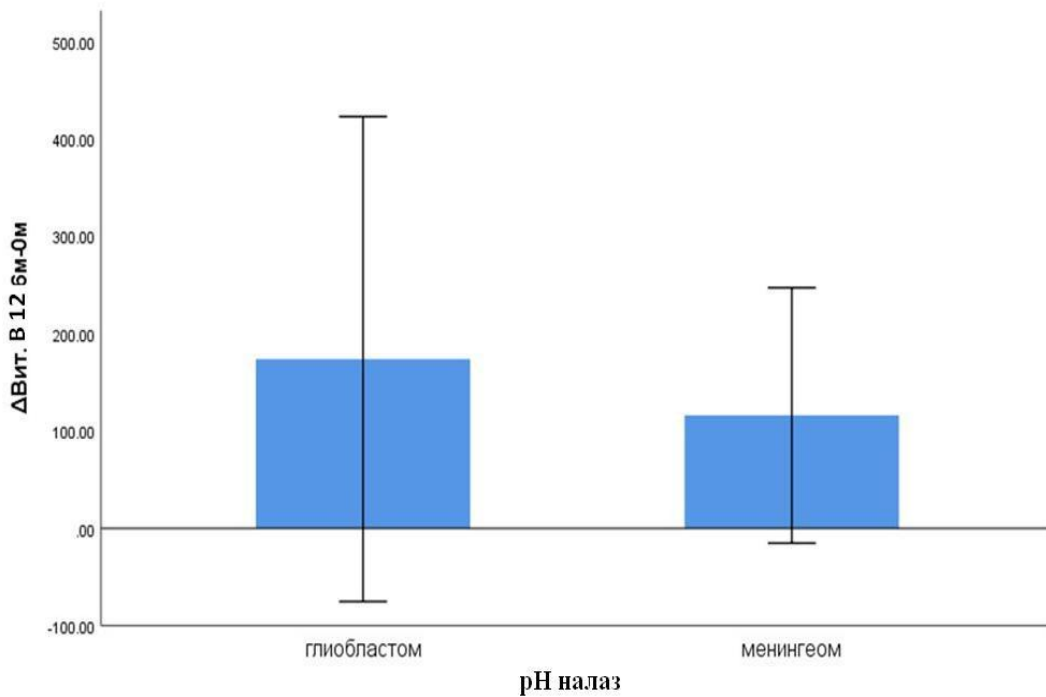
Графикон 21. Дистрибуција пацијената према промени вредности укупног хомоцистеина у односу на четири различите временске тачке мерења.



Графикон 22. Дистрибуција пацијената према промени вредности фолне киселине у односу на четири различите временске тачке мерења.



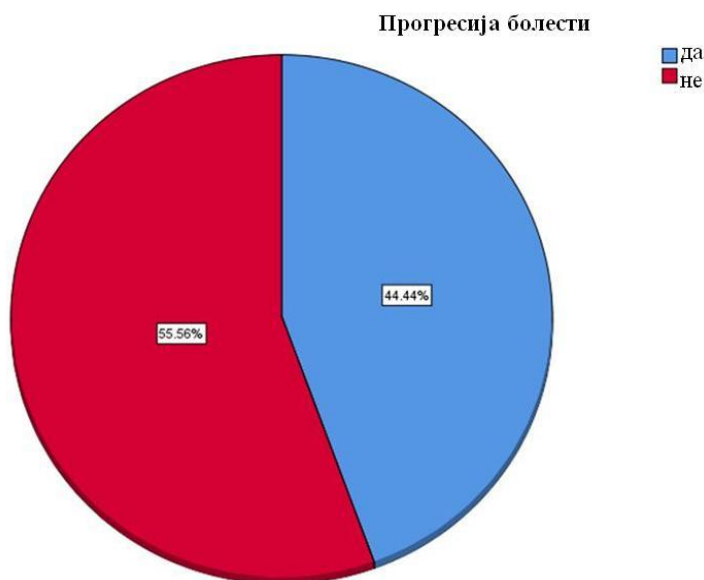
Графикон 23. Дистрибуција пацијената према промени вредности витамина В12 у односу на четири различите временске тачке мерења.



4. 6. Дистрибуција пацијената у односу на прогресију болести тумора мозга

Од укупног броја пацијената, 15 (55.6%) је имало прогресију болести, док 12 (44.4%) није имало прогресију болести. Дистрибуција пацијената у односу на прогресију болести приказана је графички (**Графикон 24**).

Графикон 24. Дистрибуција пацијената у односу на прогресију болести тумора мозга.



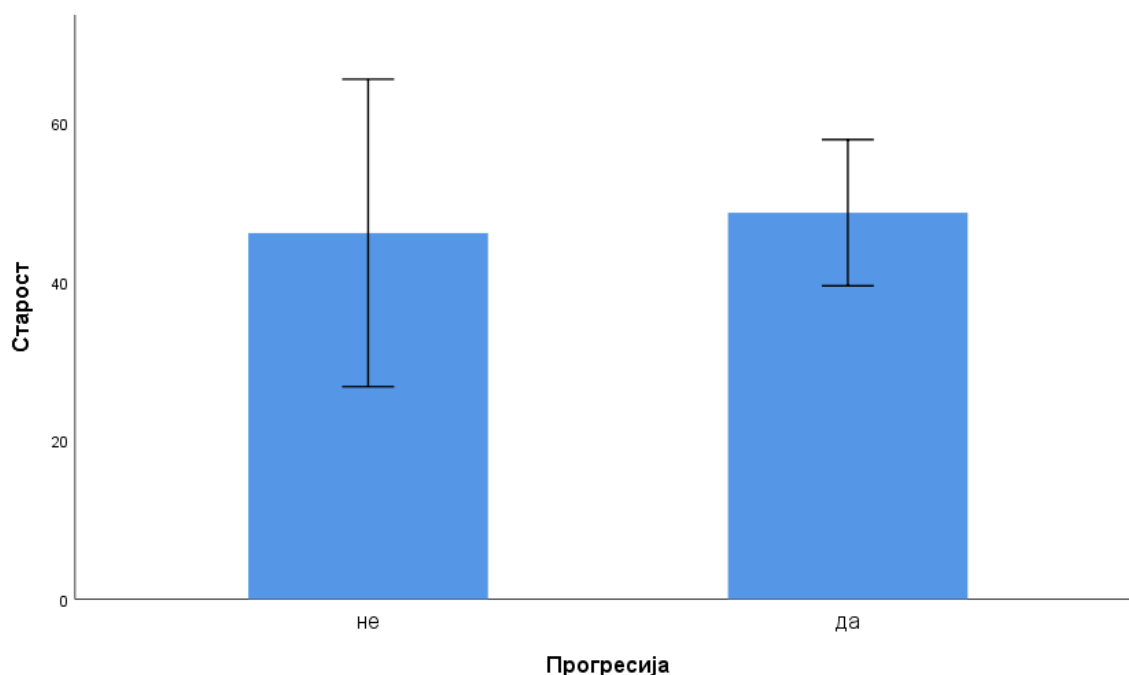
4. 7. Дистрибуција старости пацијената у односу на прогресију болести тумора мозга

У **Табели 12.** и на **Графикону 25.** приказана је старост испитаника у односу на прогресију болести. Просечне старости испитаника код са и без прогресије болести су врло сличне. Статистичком анализом старосне дистрибуције у односу на прогресију болести Mann-Whitney U тестом, утврђено је да приказана разлика није статистички значајна ($p > 0.05$).

Табела 12. Старост пацијената у односу на прогресију болести.

Прогресија болести	<i>N</i>	<i>Mean</i>	<i>Std. Deviation</i>	<i>Minimum</i>	<i>Maximum</i>	<i>p</i>
Не	26	46.18	19.38	20.00	70.00	
Да	36	48.73	9.22	33.00	64.00	> 0.05
Укупно	62	47.65	14.13	20.00	70.00	

Графикон 25. Старост пацијента у односу на прогресију болести.



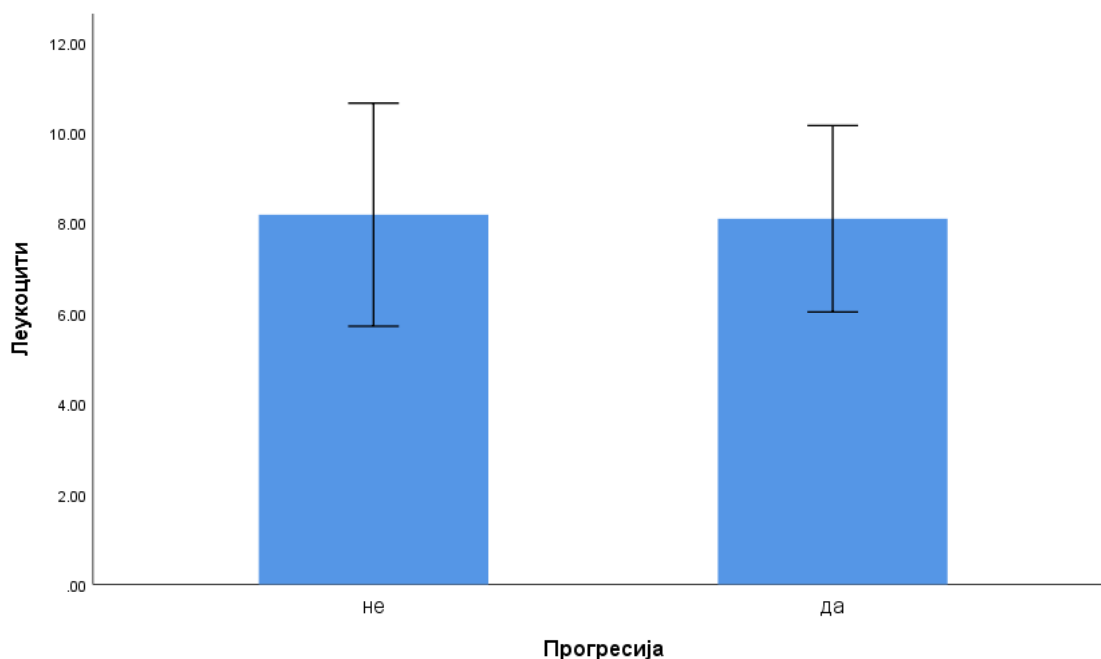
4. 8. Дистрибуција параметара у оквиру рутинских биохемијских анализа у односу на прогресију болести код испитаника различитих форми тумора мозга

У Табели 13. и на Графикону 26. је приказана дистрибуција леукоцита, у односу на прогресију болести код испитаника различитих форми тумора мозга. Просечна вредност леукоцита у односу на прогресију болести била је врло слична у обе испитиване групе. Статистичком анализом t теста за независне узорке, утврђено је да нема значајне разлике између просечних вредности леукоцита у односу на прогресију болести ($p = 0.579$).

Табела 13. Дистрибуција леукоцита у односу на прогресију болести.

Прогресија болести	<i>N</i>	<i>Mean</i>	<i>Std. Deviation</i>	<i>Minimum</i>	<i>Maximum</i>	<i>p</i>
Не	12	8.18	2.47	4.70	12.40	
Да	15	8.09	2.06	5.10	11.00	> 0.05
Укупно	27	8.13	2.21	4.70	12.40	

Графикон 26. Дистрибуција леукоцита у односу на прогресију болести.

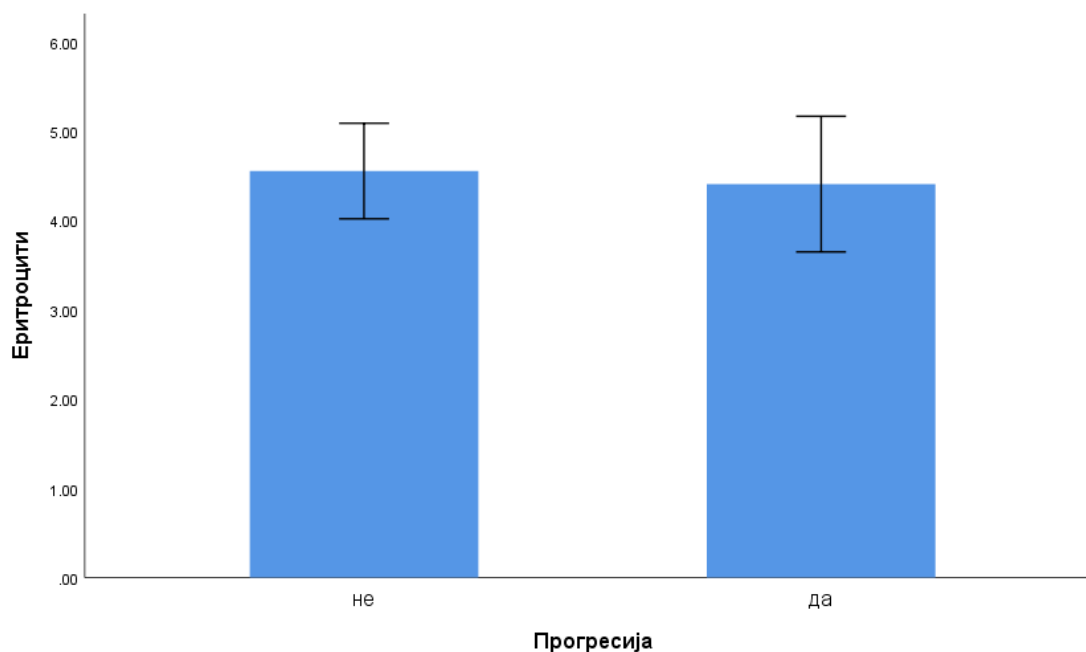


У Табели 14. и на Графикону 27. је приказана дистрибуција еритроцита, у односу на прогресију болести код испитаника различитих форми тумора мозга. Просечна вредност еритроцита у односу на прогресију болести била је врло слична у обе испитиване групе. Статистичком анализом t тестом за независне узорке, утврђено је да нема значајне разлике између просечних вредности еритроцита у односу на прогресију болести ($p > 0.05$).

Табела 14. Дистрибуција еритроцита у односу на прогресију болести.

Прогресија болести	<i>N</i>	<i>Mean</i>	<i>Std. Deviation</i>	<i>Minimum</i>	<i>Maximum</i>	<i>p</i>
Не	12	4.55	0.54	4.08	5.71	
Да	15	4.41	0.76	3.66	5.81	> 0.05
Укупно	27	4.47	0.66	3.66	5.81	

Графикон 27. Дистрибуција еритроцита у односу на прогресију болести.

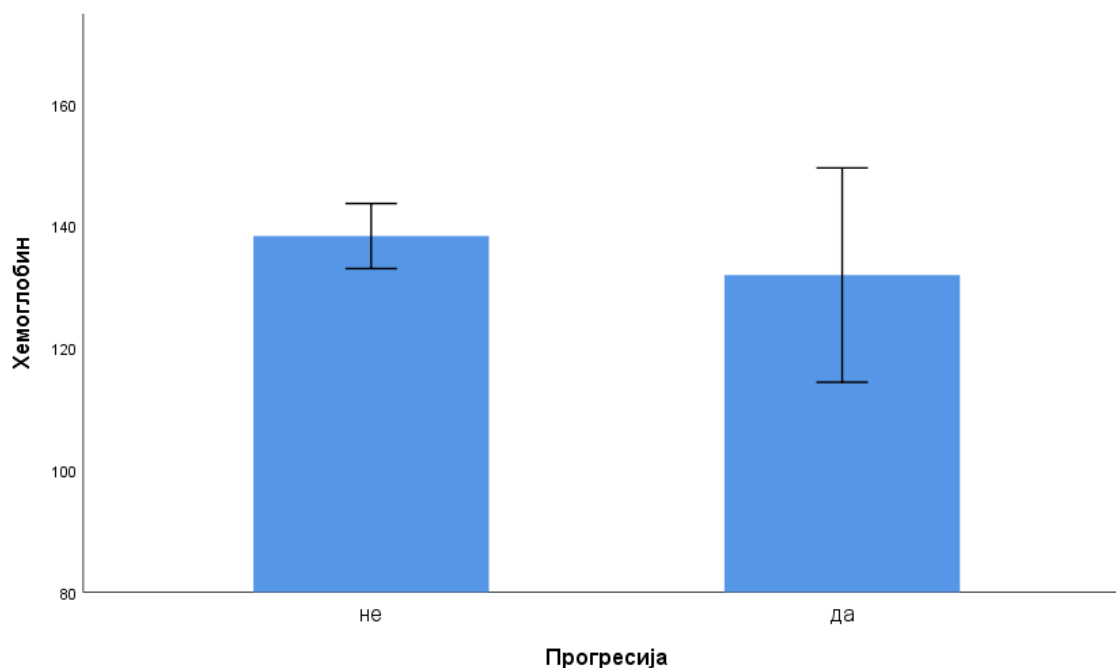


У Табели 15. и на Графикону 28. је приказана дистрибуција хемоглобина у односу на прогресију болести код испитаника различитих форми тумора мозга. Просечна вредност хемоглобина у односу на прогресију болести била је врло слична у обе испитиване групе. Статистичком анализом t тестом за независне узорке, утврђено је да нема значајне разлике између просечних вредности хемоглобина у односу на прогресију болести ($p > 0.05$) у посматраном временском периоду.

Табела 15. Дистрибуција хемоглобина у односу на прогресију болести.

Прогресија болести	<i>N</i>	<i>Mean</i>	<i>Std. Deviation</i>	<i>Minimum</i>	<i>Maximum</i>	<i>p</i>
Не	12	138.33	5.33	129.00	147.00	
Да	15	131.93	17.56	111.00	159.00	> 0.05
Укупно	27	134.78	13.73	111.00	159.00	

Графикон 28. Дистрибуција хемоглобина у односу на прогресију болести.

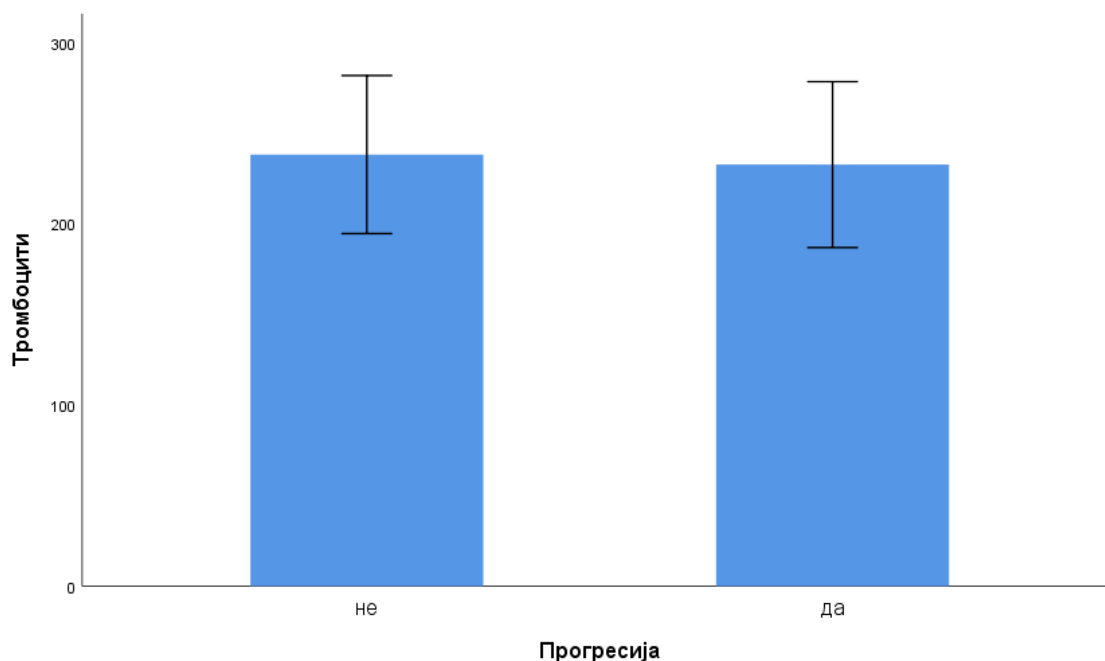


У Табели 16. и на Графикону 29. приказана је дистрибуција тромбоцита у односу на прогресију болести код испитаника различитих форми тумора мозга. Просечна вредност тромбоцита у односу на прогресију болести била је врло слична у обе испитиване групе. Статистичком анализом t тестом за независне узорке, утврђено је да нема значајне разлике између просечних вредности тромбоцита у односу на прогресију болести ($p > 0.05$) у посматраном временском периоду.

Табела 16. Дистрибуција тромбоцита у односу на прогресију болести.

Прогресија болести	<i>N</i>	<i>Mean</i>	<i>Std. Deviation</i>	<i>Minimum</i>	<i>Maximum</i>	<i>p</i>
Не	12	238.08	43.62	220.50	174.00	
Да	15	232.53	45.76	251.00	171.00	> 0.05
Укупно	27	235.00	44.05	251.00	171.00	

Графикон 29. Дистрибуција тромбоцита у односу на прогресију болести.

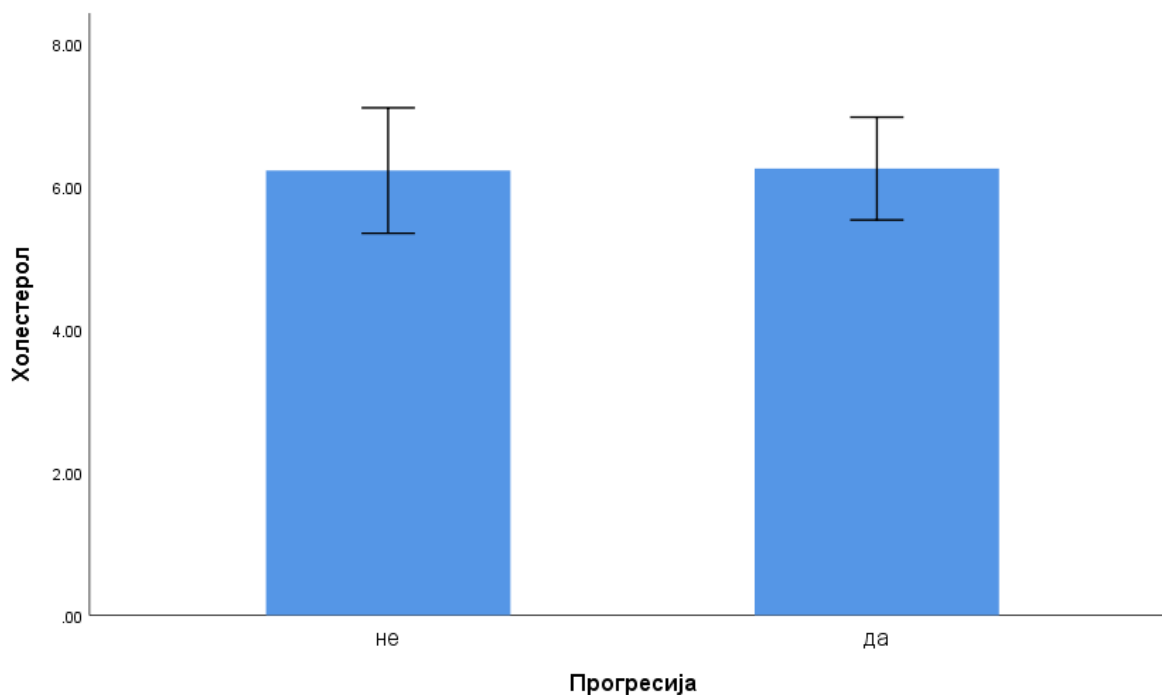


У Табели 17. и на Графикону 30. приказана је дистрибуција вредности холестерола у односу прогресију болести код испитаника различитих форми тумора мозга. Просечна вредност холестерола у односу на прогресију болести била је врло слична у обе испитиване групе. Статистичком анализом t тестом за независне узорке, утврђено је да нема значајне разлике између просечне вредности холестерола у односу на прогресију болести ($p > 0.05$) у посматраном временском периоду.

Табела 17. Дистрибуција вредности холестерола у односу на прогресију болести.

Прогресија болести	<i>N</i>	<i>Mean</i>	<i>Std. Deviation</i>	<i>Minimum</i>	<i>Maximum</i>	<i>p</i>
Не	12	6.22	0.88	5.10	8.10	
Да	15	6.25	0.72	5.20	7.70	> 0.05
Укупно	27	6.23	0.78	5.10	8.10	

Графикон 30. Дистрибуција вредности холестерола у односу на прогресију болести.

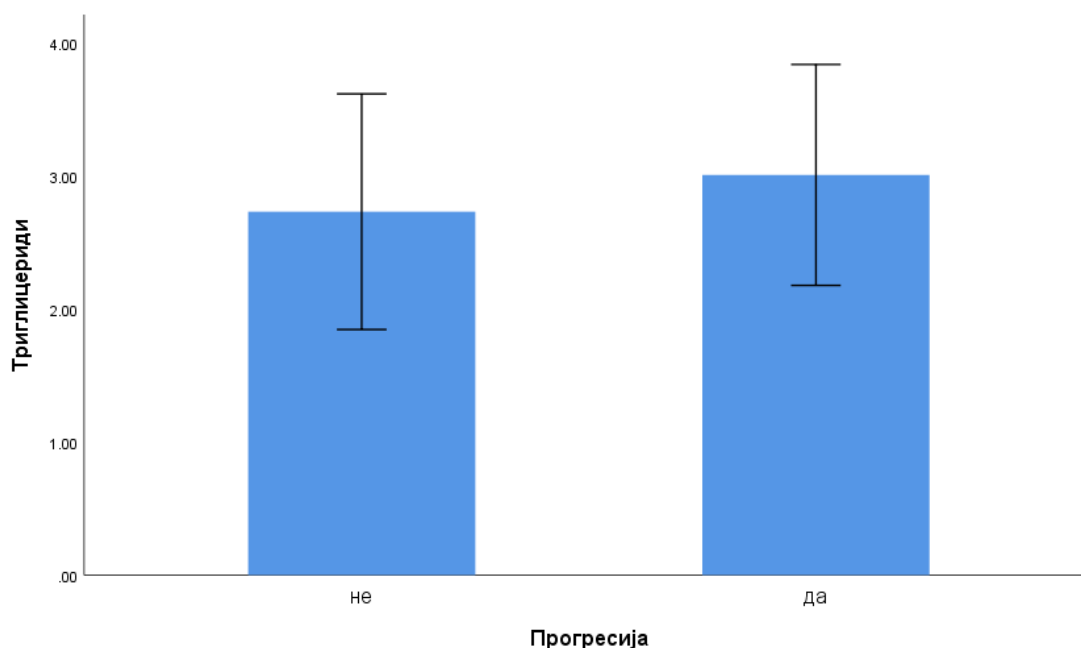


У Табели 18. и на Графикону 31. је приказана дистрибуција вредности триглицерида у односу прогресију болести код испитаника различитих форми тумора мозга. Просечна вредност триглицерида у односу на прогресију болести била је врло слична у обе испитиване групе. Статистичком анализом t тестом за независне узорке, утврђено је да нема значајне разлике између просечних вредности триглицерида у односу на прогресију болести ($p > 0.05$).

Табела 18. Дистрибуција вредности триглицерида у односу на прогресију болести.

Прогресија болести	<i>N</i>	<i>Mean</i>	<i>Std. Deviation</i>	<i>Minimum</i>	<i>Maximum</i>	<i>p</i>
Не	12	2.73	0.88	2.71	1.14	
Да	15	3.01	0.83	3.20	1.80	> 0.05
Укупно	27	2.88	0.85	3.10	1.14	

Графикон 31. Дистрибуција вредности триглицерида у односу на прогресију болести.

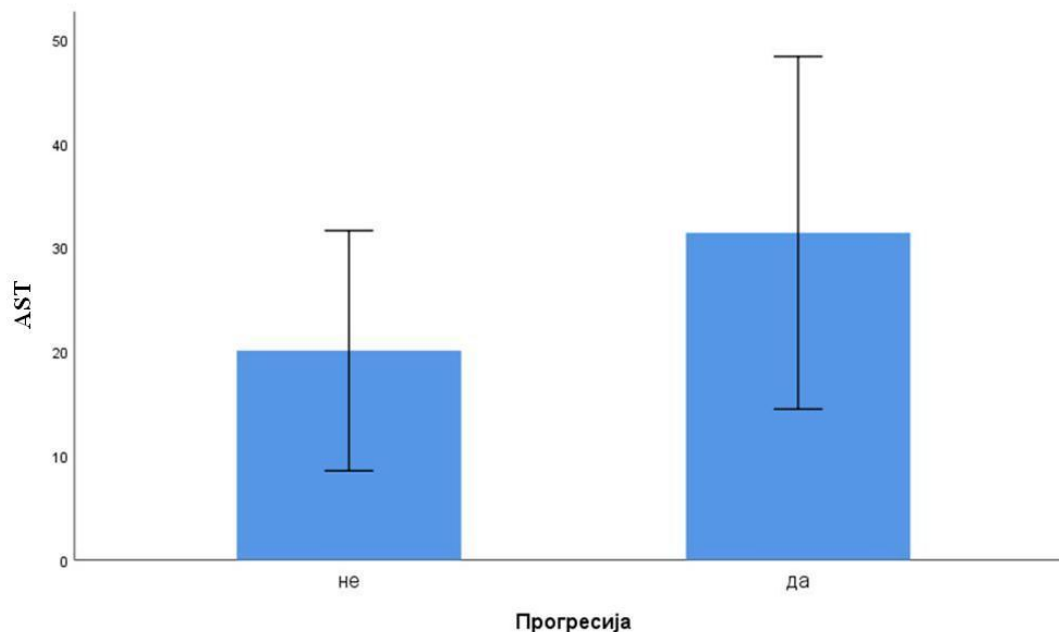


У Табели 19. и на Графикону 32. приказана је дистрибуција вредности AST-а у односу на прогресију болести код испитаника различитих форми тумора мозга. Просечна вредност AST-а у односу на прогресију болести била је врло слична у обе испитиване групе. Статистичком анализом, утврђено је да нема значајне разлике између просечних вредности AST-а у односу на прогресију болести ($p > 0.05$) у посматраном временском периоду.

Табела 19. Дистрибуција вредности AST-а у односу на прогресију болести.

Прогресија болести	<i>N</i>	<i>Mean</i>	<i>Std. Deviation</i>	<i>Perc.25</i>	<i>Perc.75</i>	<i>p</i>
Не	12	20.08	11.52	13.50	22.50	> 0.05
Да	15	31.40	16.92	18.00	52.00	

Графикон 32. Дистрибуција вредности АСТ-а у односу на прогресију болести.

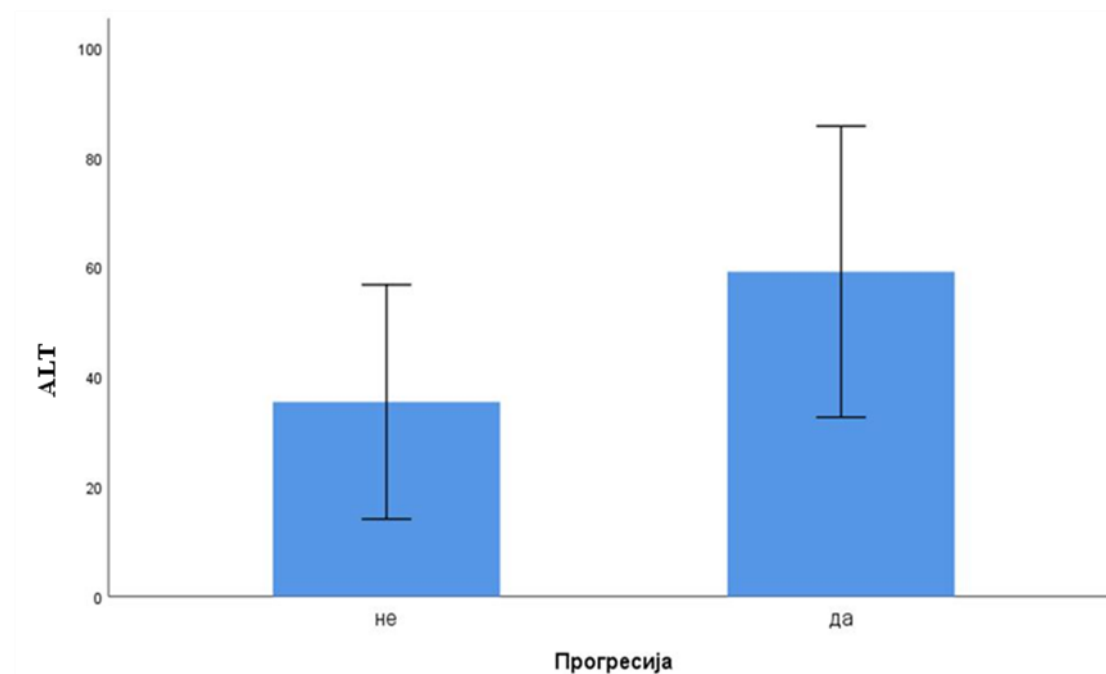


У Табели 20. и на Графикону 33. приказана је дистрибуција вредности АЛТ-а у односу на прогресију болести код испитаника различитих форми тумора мозга. Просечна вредност АЛТ-а у односу на прогресију болести била је врло слична у обе испитиване групе. Статистичком анализом утврђено је да нема значајне разлике између просечних вредности АЛТ-а у односу на прогресију болести ($p > 0.05$) у посматраном временском периоду.

Табела 20. Дистрибуција вредности аланин аминотрансферазе (АЛТ) у односу на прогресију болести.

Прогресија болести	<i>N</i>	<i>Mean</i>	<i>Std. Deviation</i>	<i>Perc.25</i>	<i>Perc.75</i>	<i>p</i>
Не	12	35.42	21.33	23.00	41.00	> 0.05
Да	15	59.13	26.51	38.00	83.00	

Графикон 33. Дистрибуција вредности аланин аминотрансферазе (ALT) у односу на прогресију болести.

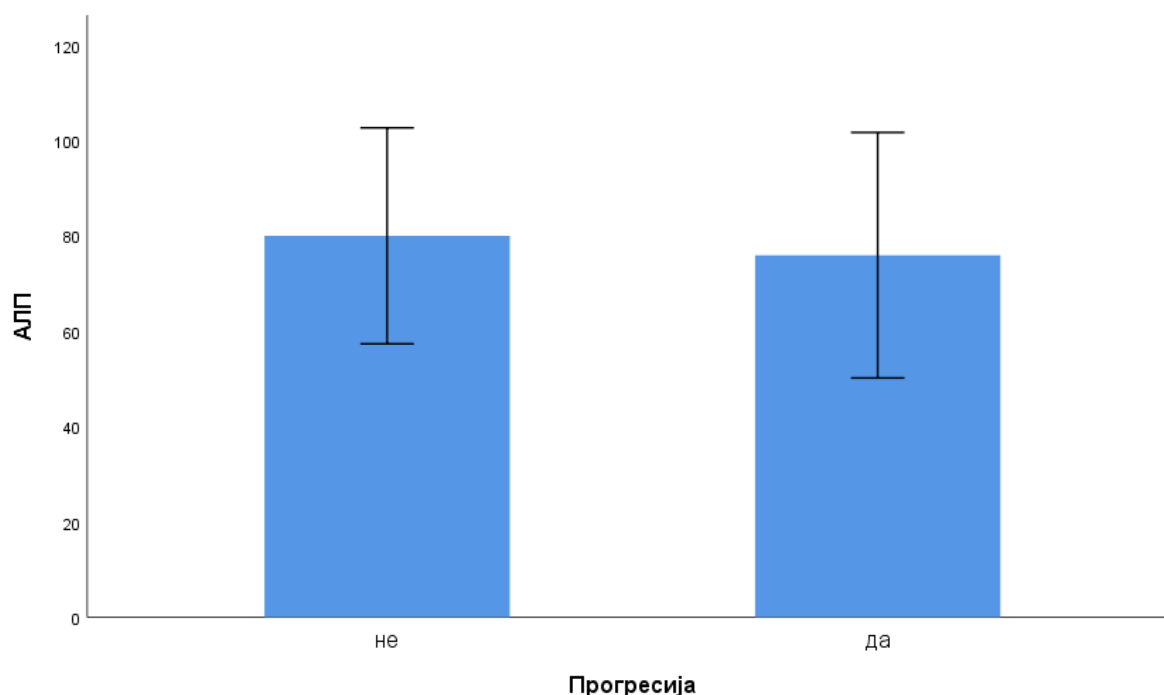


У Табели 21. и на Графикону 34. приказана је дистрибуција вредности ALP-а у односу на прогресију болести код испитаника различитих форми тумора мозга. Просечна вредност ALP-а у односу на прогресију болести била је врло слична у обе испитиване групе. Статистичком анализом t тестом за независне узорке, утврђено је да нема значајне разлике између просечних вредности ALP-а у односу на прогресију болести ($p > 0.05$) у посматраном временском периоду.

Табела 21. Дистрибуција пацијената према вредности алкалне фосфатазе (ALP) у односу на прогресију болести.

Прогресија болести	<i>N</i>	<i>Mean</i>	<i>Std. Deviation</i>	<i>Minimum</i>	<i>Maximum</i>	<i>p</i>
Не	12	80.00	22.65	41.00	119.00	
Да	15	75.93	25.76	34.00	115.00	> 0.05
Укупно	27	77.74	24.05	34.00	119.00	

Графикон 34. Дистрибуција вредности алкалне фосфатазе (ALP) у односу на прогресију болести.

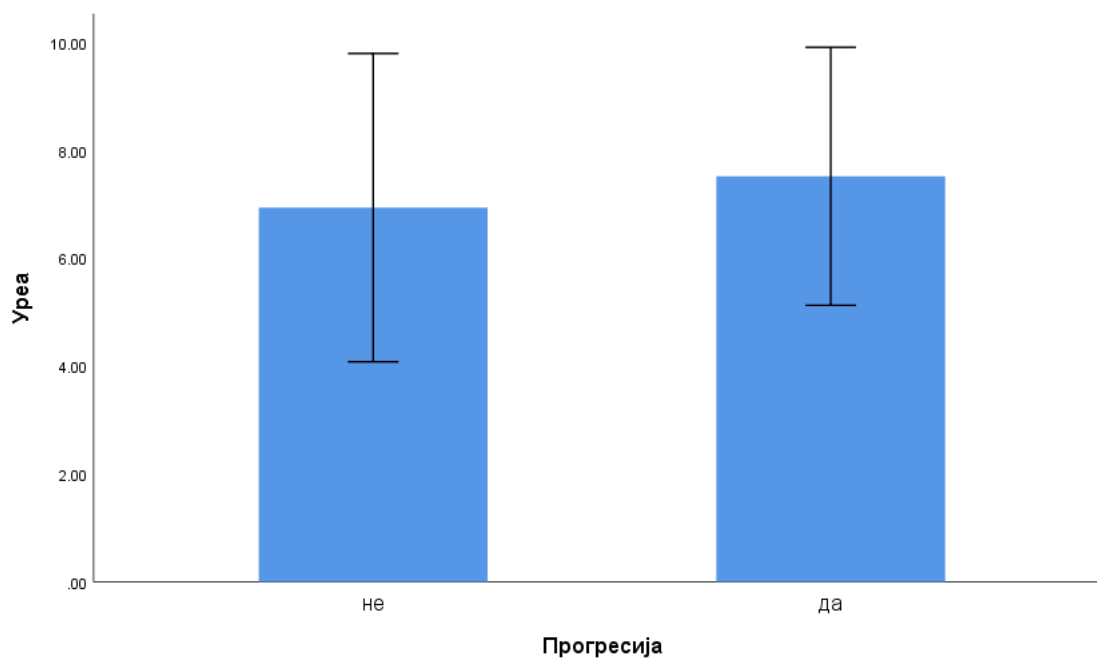


У Табели 22. и на Графикону 35. је приказана дистрибуција вредности урее у односу на прогресију болести код испитаника различитих форми тумора мозга. Просечна вредност урее у односу на прогресију болести била је врло слична у обе испитиване групе. Статистичком анализом утврђено је да нема значајне разлике између просечних вредности урее у односу на прогресију болести ($p > 0.05$) у посматраном временском периоду.

Табела 22. Дистрибуција пацијената према вредности урее у односу на прогресију болести.

Прогресија болести	<i>N</i>	<i>Mean</i>	<i>Std. Deviation</i>	<i>Perc.25</i>	<i>Perc.75</i>	<i>p</i>
Не	12	6.93	2.86	5.65	4.70	> 0.05
Да	15	7.51	2.39	7.30	5.30	

Графикон 35. Дистрибуција урее у односу на прогресију болести.

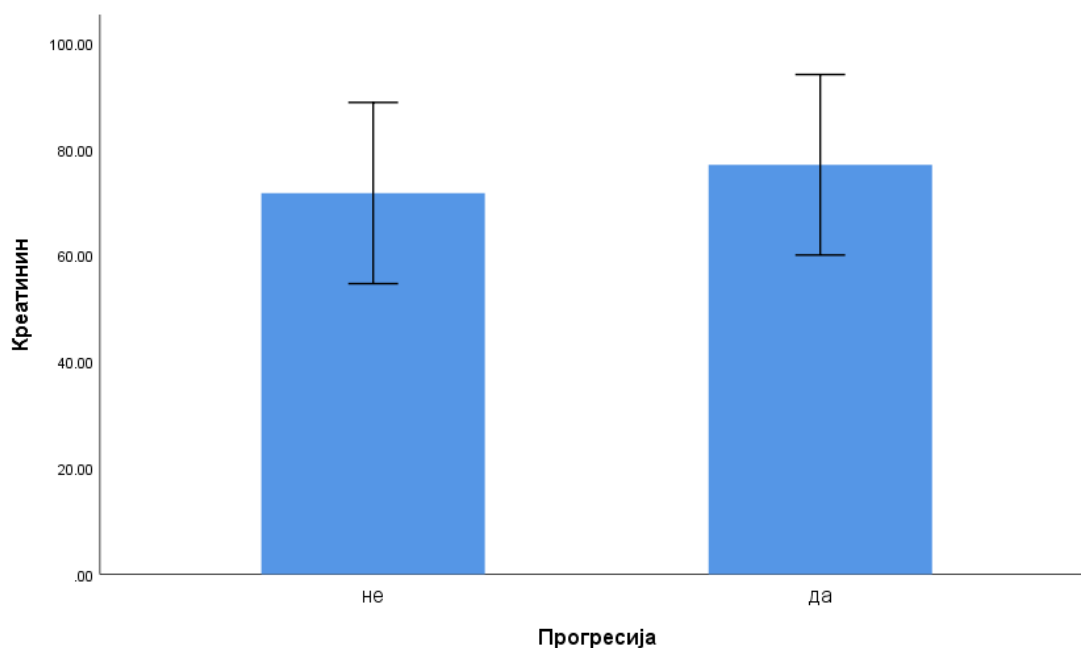


У Табели 23. и на Графикону 36. приказана је дистрибуција вредности креатинина у односу на прогресију болести код испитаника различитих форми тумора мозга. Просечна вредност креатинина у односу на прогресију болести била је врло слична у обе испитиване групе. Статистичком анализом утврђено је да нема значајне разлике између просечних вредности креатинина у односу на прогресију болести ($p > 0.05$) у посматраном временском периоду.

Табела 23. Дистрибуција пацијената по вредности креатинина у односу на прогресију болести.

Прогресија болести	<i>N</i>	<i>Mean</i>	<i>Std. Deviation</i>	<i>Perc.25</i>	<i>Perc.75</i>	<i>p</i>
Не	12	71.69	17.04	62.30	74.65	> 0.05
Да	15	77.01	16.98	67.50	79.90	

Графикон 36. Дистрибуција креатинина у односу на прогресију болести.



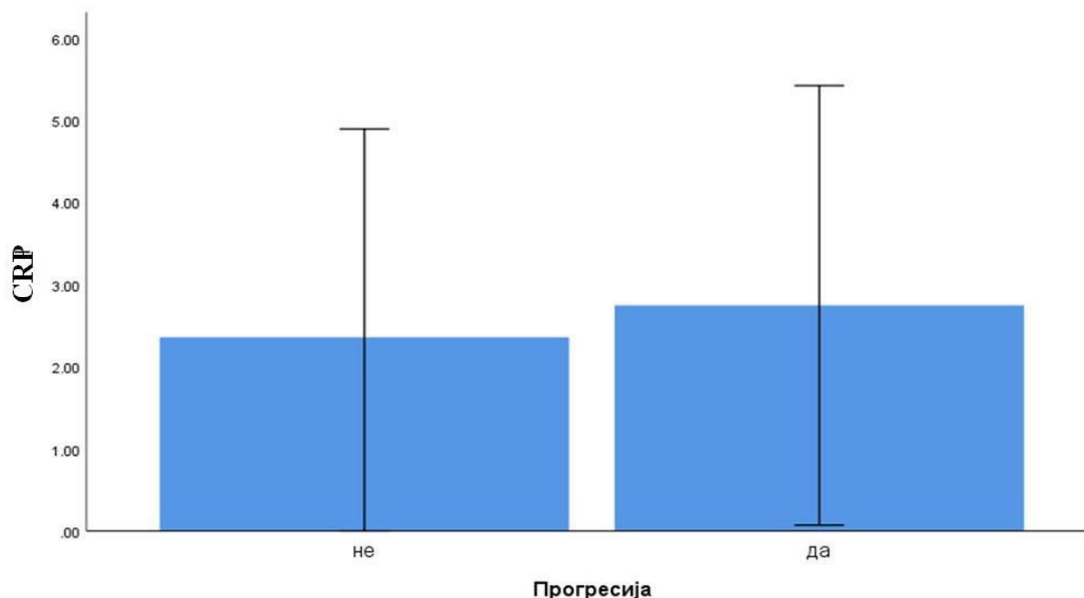
4. 9. Дистрибуција маркера инфламације у односу на прогресију болести код испитаника различитих форми тумора мозга

У Табели 24. и на Графикону 37. приказана је дистрибуција вредности фибриногена у односу на прогресију болести код испитаника различитих форми тумора мозга. Просечна вредност фибриногена у односу на прогресију болести била је врло слична у обе испитиване групе. Статистичком анализом утврђено је да нема значајне разлике између просечних вредности фибриногена у односу на прогресију болести ($p > 0.05$) у посматраном временском периоду.

Табела 24. Дистрибуција пацијената према вредности С-реактивног протеина (CRP) у односу на прогресију болести.

Прогресија болести	<i>N</i>	<i>Mean</i>	<i>Std. Deviation</i>	<i>Perc.25</i>	<i>Perc.75</i>	<i>p</i>
Не	12	2.36	2.53	1.55	1.10	2.25
Да	15	2.75	2.67	1.90	1.10	2.30

Графикон 37. Дистрибуција С-реактивног протеина (CRP) у односу на прогресију болести.

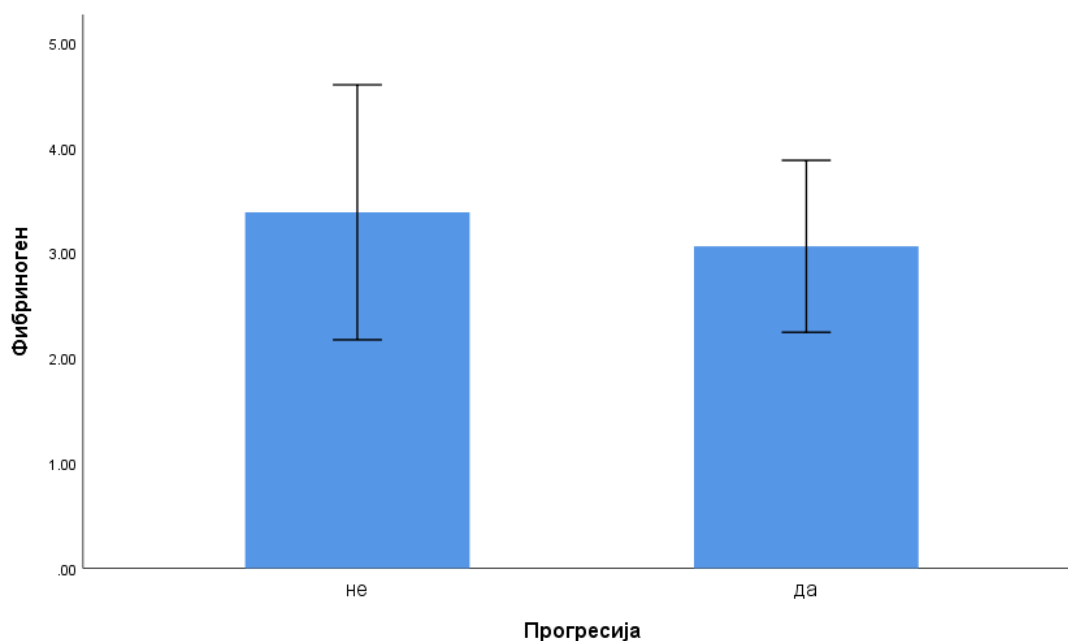


У Табели 25. и на Графикону 38. приказана је дистрибуција вредности фибриногена у односу на прогресију болести код испитаника различитих форми тумора мозга. Просечна вредност фибриногена у односу на прогресију болести била је врло слична у обе испитиване групе. Статистичком анализом утврђено је да нема значајне разлике између просечних вредности фибриногена у односу на прогресију болести ($p > 0.05$) у посматраном временском периоду.

Табела 25. Дистрибуција пацијената према вредности фибриногена у односу на прогресију болести.

Прогресија болести	<i>N</i>	<i>Mean</i>	<i>Std. Deviation</i>	<i>Minimum</i>	<i>Maximum</i>	<i>p</i>
Не	12	3.38	1.21	1.70	5.20	
Да	15	3.06	0.82	1.80	4.90	> 0.05
Укупно	27	3.20	1.00	1.70	5.20	

Графикон 38. Дистрибуција фибриногена у односу на прогресију болести.

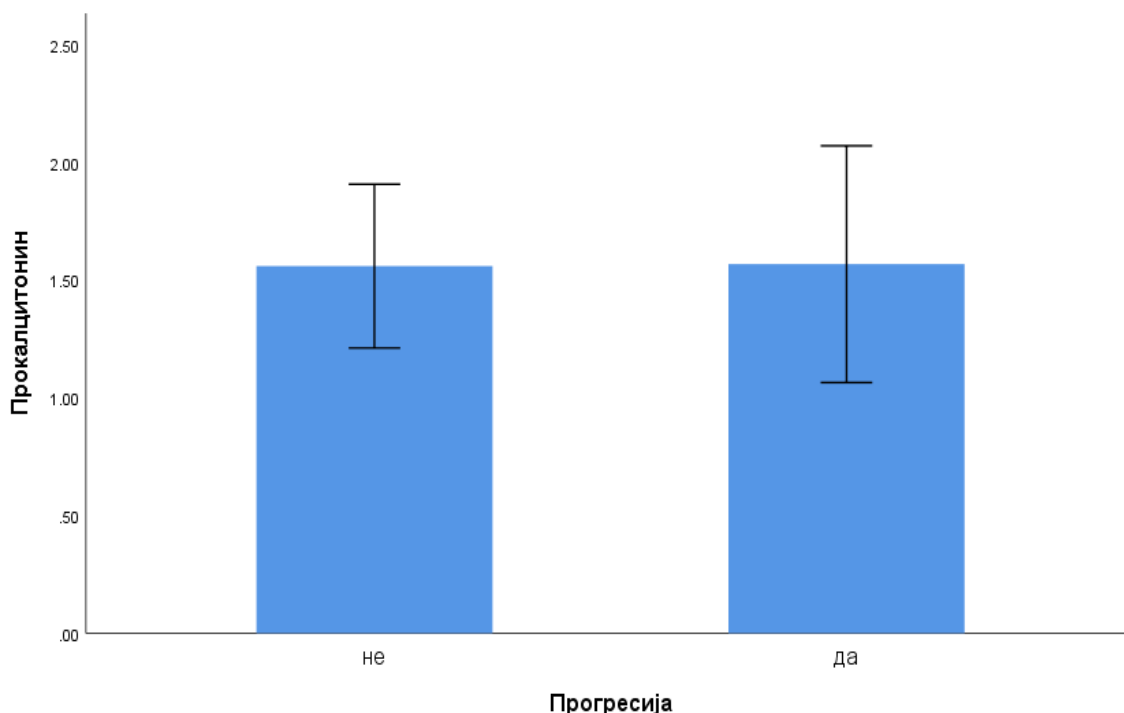


У Табели 26. и на Графикону 39. приказана је дистрибуција вредности прокалцитонина у односу на прогресију болести код испитаника различитих форми тумора мозга. Просечна вредност прокалцитонина у односу на прогресију болести била је врло слична у обе испитиване групе. Статистичком анализом утврђено је да нема значајне разлике између просечних вредности прокалцитонина у односу на прогресију болести ($p > 0.05$) у посматраном временском периоду.

Табела 26. Дистрибуција пацијената према вредности прокалцитонина у односу на прогресију болести.

Прогресија болести	<i>N</i>	<i>Mean</i>	<i>Std. Deviation</i>	<i>Minimum</i>	<i>Maximum</i>	<i>p</i>
Не	12	1.56	0.35	1.00	2.20	
Да	15	1.57	0.50	0.90	2.40	> 0.05
Укупно	27	1.56	0.43	0.90	2.40	

Графикон 39. Дистрибуција прокалцитонина у односу на прогресију болести.



4. 10. Појединачно и међусобно поређење вредности укупног хомоцистеина, фолне киселине и витамина В12 у четири различита мерена временска тренутка (преоперативно, месец дана, три и шест месеци након операције) код испитаника са и без прогресије болести

У Табели 27. и на Графикону 40. приказане је поређење просечних вредности укупног хомоцистеина преоперативно, месец дана, три и шест месеци након операције код испитаника са и без прогресије болести.

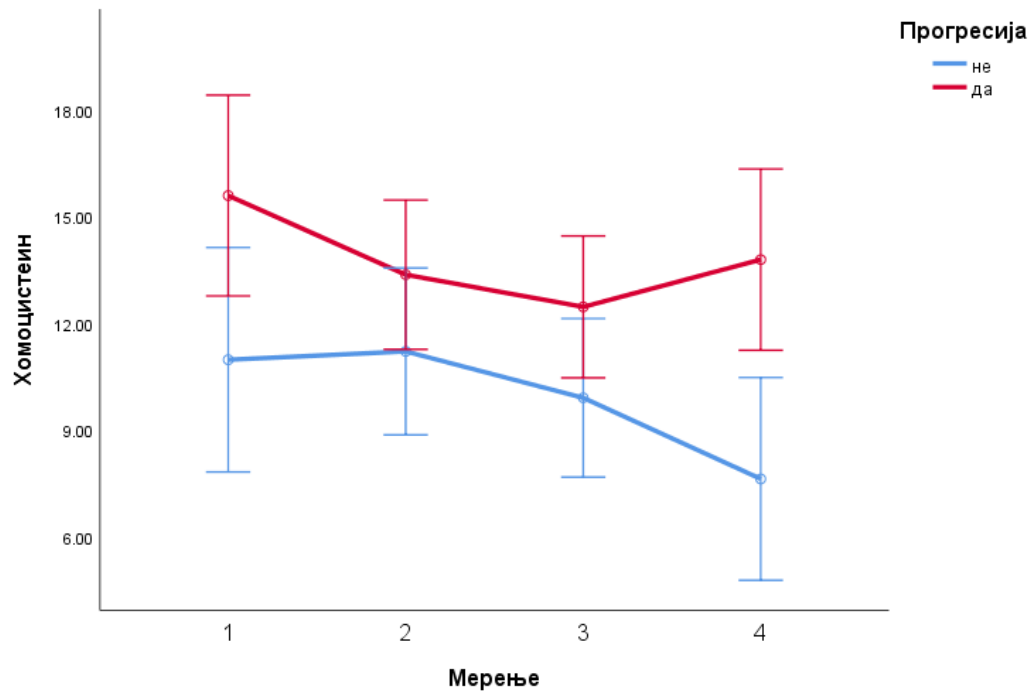
На основу добијених резултата уочава се да су просечне вредности укупног хомоцистеина у паду у обе испитиване групе. Такође, постоји статистички значајна разлика у почетним вредностима хомоцистеина између група ($p < 0.05$). Међутим, вредности у првом и трећем месецу су нешто сличније и разлика између група у овом период није статистички значајна ($p > 0.05$). У шестом месецу, поново је евидентна разлика између група, која је статистички била значајна ($p < 0.05$).

Табела 27. Пређење вредности укупног хомоцистеина у четири различита временска мерења приказана по испитиваним групама.

<i>Прогресија</i>	<i>Без прогресије</i>			<i>Прогресија</i>			<i>p вредност</i>
	<i>AS</i>	<i>SD</i>	<i>Median</i>	<i>AS</i>	<i>SD</i>	<i>Median</i>	
<i>Хомоцистеин преоперативно</i>	10.98	6.49	10.65	15.60	4.16	16.70	<i>0.034*</i>
<i>Хомоцистеин 1m</i>	11.21	3.18	11.05	13.37	4.47	12.51	<i>0.170</i>
<i>Хомоцистеин 3m</i>	9.91	2.49	10.35	12.47	4.50	10.90	<i>0.090</i>
<i>Хомоцистеин 6m</i>	7.63	1.45	7.46	13.80	6.28	11.20	<i>0.002*</i>

**Mann-Whitney U test*

Графикон 40. Пређење вредности укупног хомоцистеина у четири различита временска мерења приказана по испитиваним групама.



У Табели 28. и на Графикону 41. анализирано је поређење промене вредности укупног хомоцистеина преоперативно, месец дана, три и шест месеци након операције у односу на испитиване групе (са и без прогресије болести).

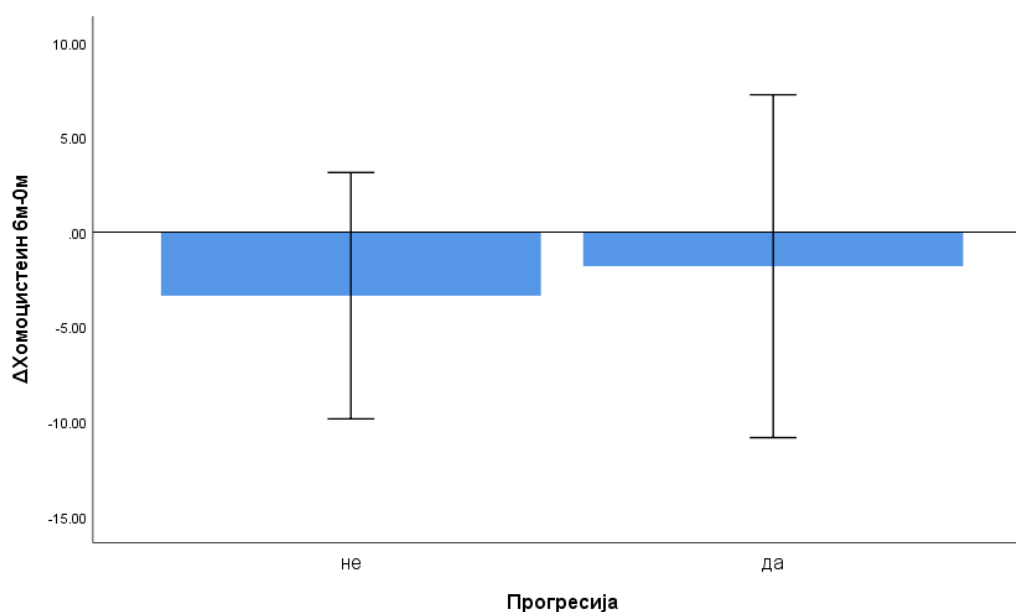
На основу добијених резултата уочава се да је просечна промена вредности хомоцистеина већа у групи пацијената који немају прогресију болести, али је медијана промене мања у овој наведеној групи. Због великог варијабилитета ове разлике немају статистички значајне разлике између испитиваних група према промени вредности хомоцистеина ($p=0,609$).

Табела 28. Дистрибуција пацијената према промени вредности хомоцистеина у односу на испитиване групе.

Δ Хомоцистеин бм-0м

Прогресија	<i>N</i>	<i>AS</i>	<i>SD</i>	<i>Median</i>	<i>Minimum</i>	<i>Maksimum</i>	<i>p</i>
не	12	-3.35	6.50	-2.45	-18.04	4.10	
да	15	-1.80	9.04	-6.00	-12.81	12.97	> 0.05
Укупно	27	-2.49	7.91	-2.50	-18.04	12.97	

Графикон 41. Дистрибуција пацијената према промени вредности хомоцистеина у односу на испитиване групе.



У Табели 29. и на Графикону 42. приказане је поређење просечних вредности фолне киселине преоперативно, месец дана, три и шест месеци након операције код испитаника са и без прогресије болести.

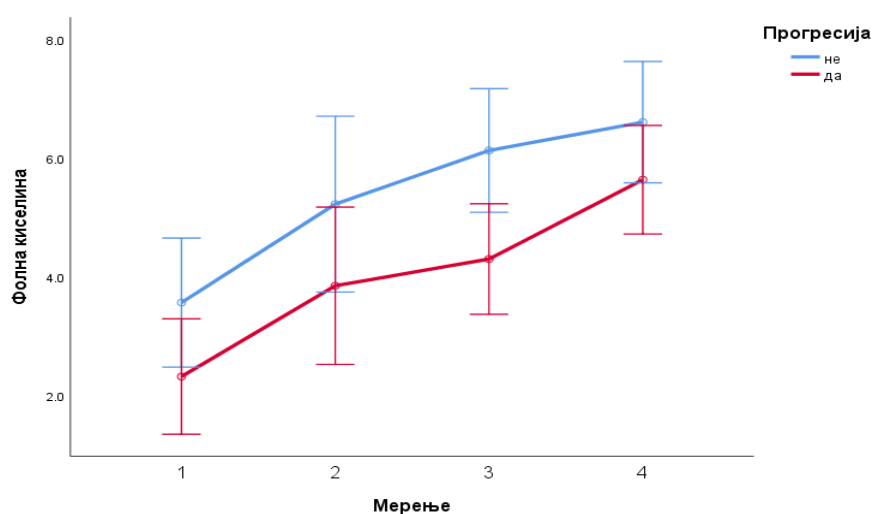
На основу добијених резултата уочава се да постоји статистички значајна разлика фолне киселине у трећем месецу код испитаника са и без прогресије болести ($p < 0.05$). Међутим, вредности преоперативно, у првом и шестом месецу нису показали статистички значајну разлику ($p > 0.05$).

Табела 29. Фолна киселина у четири различита временска мерења у односу на прогресију болести.

Прогресија	Без прогресије			Прогресија			p вредност
	AS	SD	Median	AS	SD	Median	
Фолна киселина преоперативно	3.56	2.60	2.50	2.31	0.83	2.30	0.494
Фолна киселина 1m	5.22	2.56	4.70	3.84	2.44	3.50	0.166
Фолна киселина 3m	6.12	1.62	6.64	4.29	1.85	4.01	0.012*
Фолна киселина 6m	6.60	1.11	6.80	5.63	2.08	6.00	0.134

*t тест за независне узорке

Графикон 42. Фолна киселина у четири различита временска мерења у односу на прогресију болести



У Табели 30. и на Графикону 43. анализирана је промена вредности фолне киселине преоперативно, месец дана, три и шест месеци након операције у односу на испитиване групе (са и без прогресије болести).

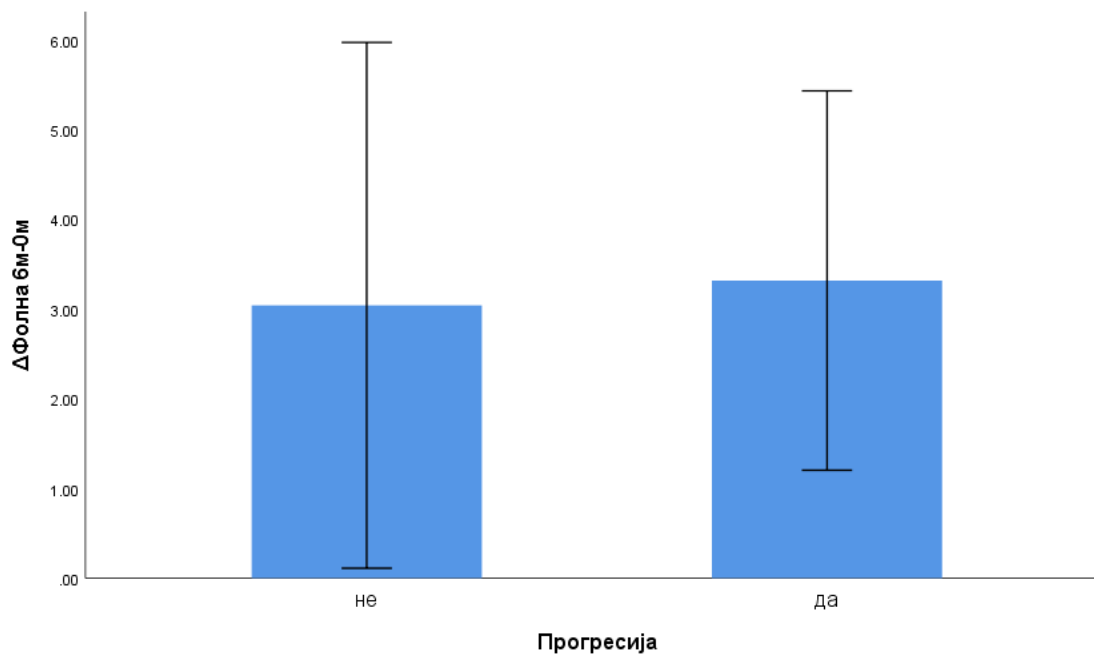
На основу добијених резултата уочава се да је просечна промена вредности фолне киселине слична између група пацијената са и без прогресије болести, док је медијана промене већа у групи без прогресије болести. Због великог варијабилитета ове разлике немају статистички значајне разлике између испитиваних група према промени вредности фолне киселине ($p > 0.05$).

Табела 30. Дистрибуција пацијената према промени вредности фолне киселине у односу на испитиване групе.

ΔФолна киселина бm-0m

Прогресија	<i>N</i>	<i>AS</i>	<i>SD</i>	<i>Median</i>	<i>Minimum</i>	<i>Maksimum</i>	<i>p</i>
не	12	-3.35	6.50	-2.45	-18.04	4.10	
да	15	-1.80	9.04	-6.00	-12.81	12.97	> 0.05
Укупно	27	-2.49	7.91	-2.50	-18.04	12.97	

Графикон 43. Дистрибуција пацијената према промени вредности фолне киселине у односу на прогресију болести.



У Табели 31. и на Графикону 44. приказано је поређење просечних вредности витамина В12 преоперативно, месец дана, три и шест месеци након операције код испитаника са и без прогресије болести.

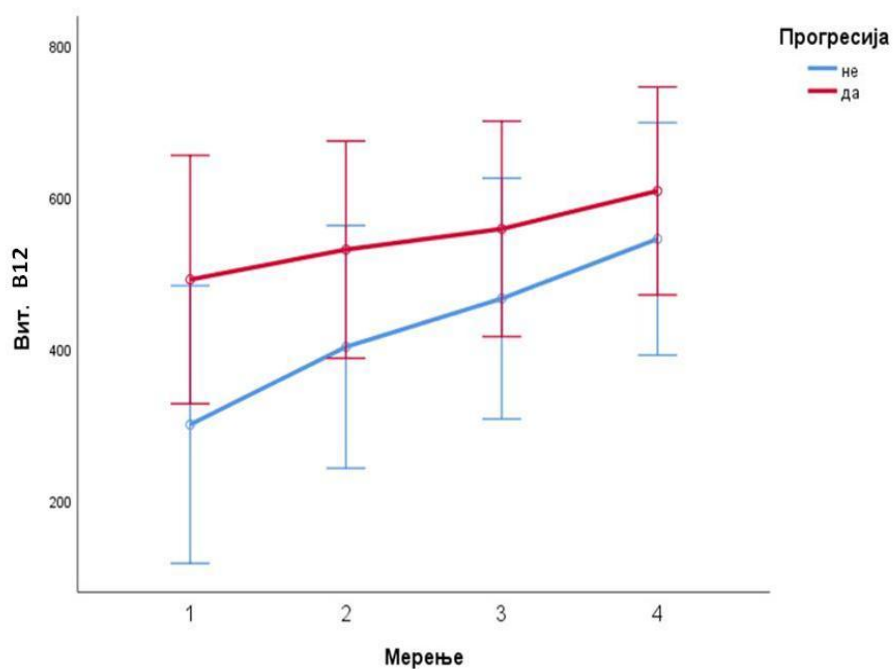
На основу добијених резултата уочава се да не постоји статистички значајна разлика витамина В12 у свим испитиваним и мереним временским интервалима у односу на прогресију болести ($p > 0.05$).

Табела 31. Витамин В12 у четири различита мерења у односу на прогресију болести.

Прогресија	Без прогресије			Прогресија			p вредност
	AS	SD	Median	AS	SD	Median	
Витамин В12 преоперативно	299.25	115.92	257	490.47	398.61	336	0.102
Витамин В12 1m	401.67	145.39	385	530.00	335.98	395	0.196
Витамин В12 3m	465.42	131.06	488	557.27	337.56	493	0.807
Витамин В12 6m	544.08	173.03	583	607.33	308.56	571	0.884

*t тест за независне узорке

Графикон 44. Витамин В12 у четири различита мерења у односу на прогресију болести



У Табели 32. и на Графикону 45. анализирана је промена вредности витамина В12 преоперативно, месец дана, три и шест месеци након операције у односу на испитиване групе (са и без прогресије болести).

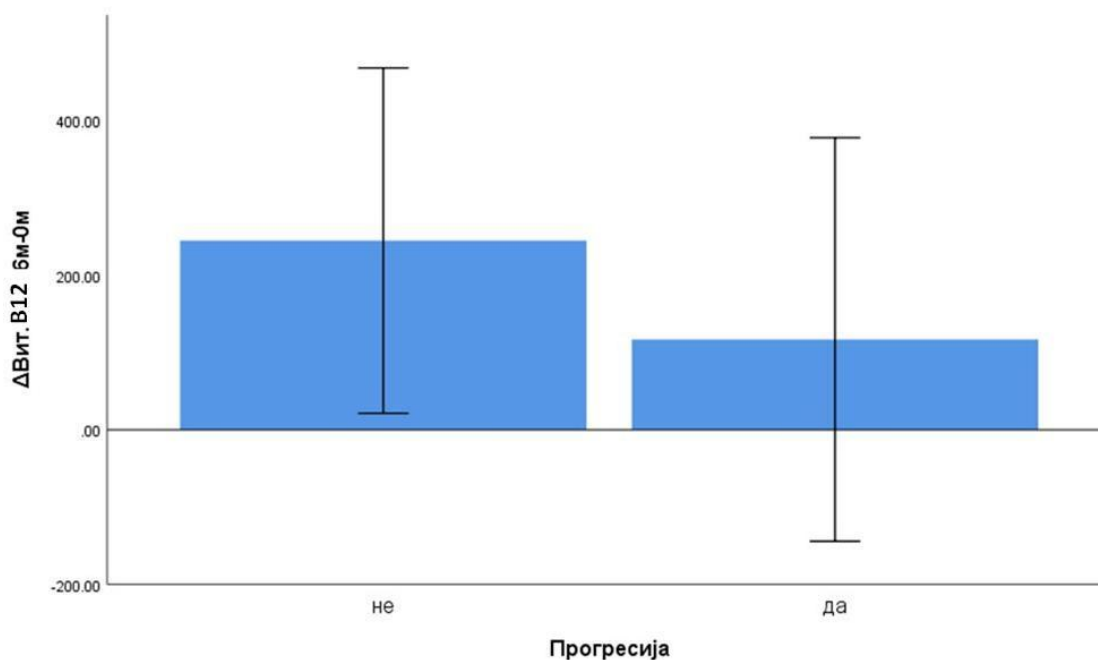
На основу добијених резултата уочава се да је просечна промена вредности витамина В12 већа у групи пацијената који немају прогресију болести, док је медијана приближних вредности међу наведеним групама. Због великог варијабилитета ове разлике немају статистички значајне разлике између испитиваних група по промени вредности витамина В12 ($p > 0.05$).

Табела 32. Дистрибуција пацијената према променама вредности витамина В12 у односу на испитиване групе.

Δ Витамин В12 6m-0m

<i>Прогресија</i>	<i>N</i>	<i>AS</i>	<i>SD</i>	<i>Median</i>	<i>Minimum</i>	<i>Maksimum</i>	<i>p</i>
<i>не</i>	12	244.8	223.4	192.5	-97.0	628.0	
<i>да</i>	15	116.9	261.1	200.0	-666.0	390.0	> 0.05
<i>Укупно</i>	27	173.7	249.0	200.0	-666.0	628.0	

Графикон 45. Дистрибуција пацијената према променама вредности витамина В12 у односу на прогресију болести.



V
ДИСКУСИЈА

”Учење је почетак богатства. Учење је почетак здравља. Учење је почетак духовности. Истраживање и учење су место на ком сва чуда почињу да се дешавају“.

Дим Рон (encl. Jim Rohn; 1930 — 2009), амерички писац.

Ова докторска дисертације је дизајнирана са циљем да се код пацијената са малигним туморима мозга утврди могућа предиктивна улога хомоцистеина и витамина који су укључени у његов метаболизам (витамини В9 и В12).

Према нашим сазнањима, досадашња истраживања везана за хомоцистеин, фолну киселину и витамин В12 нису обухватала адултну популацију оболелих од малигнух тумора мозга. Како су малигне болести све чешће, сматрали смо да је сврсисходно и оправдано да се проучи корелација између вредности хомоцистеина, фолне киселине, витамина В12 и различитих врста малигнух тумора код одраслих пацијената са овим болестима. Осим тога, од интереса је било и испитивање динамике промена вредности ових једињења ради проналажења могућих нових стратегија у дијагностици, третману и праћењу болести.

Карциногенеза је дуготрајни процес постепене акумулације генетских абнормалности. Клоналне популације ћелија доживљавају прогресивне генетске алтерације које доводе до појаве малигнитета и селективног напредовања у расту. Познато је да је карциногенеза удружена са метаболичким поремећајима које убрзавају неопластичку прогресију или настају из ње (93). Самим тим, проучавањем метаболичких поремећаја добијају се важни подаци о биолошким карактеристикама тумора и односу тумор-пацијент. Ово је такође пут до проналажења нових терапијских мета.

Метаболичке реакције у којима учествује фолна киселина називају се једнокарбонске метаболичке реакције (94). Промене у једно-карбонском метаболизму се одражавају на ДНК синтезу, поправку и метилацију, што може довести до карциногенезе (95). Фолна киселина учествује у синтези серина и пуринских и пиримидинских база и дозор је метил групе у циклусу синтезе метионина. Хомоцистеин је интермедијарни метаболит у метаболизму метионина и метаболише се у метионин и цистеин. Током ових метаболичких циклуса настаје и С-аденозил метионин, главни дозор метил групе у људском организму. Концентрација хомоцистеина у серуму је осетљиви индикатор фолатног статуса организма док је недостатак фолата често удружен са хиперхомоцистеинемом. Уносом фолата може се снизити ниво хомоцистеина односно (96).

Дефицит фолата доводи до смањења инкорпорације урацила у ДНК, што у крајњем узрокује нестабилност ДНК молекула. Утврђено је да су повишене вредности хомоцистеина код одраслих удружене са карциномом плућа (97), и колоректалним карциномом (98). Алтерације у метионинском циклусу су присутне и код карцинома дојке (99), панкреаса (100) и ларинкса (101).

Последњих година се све више указује на могуће ефекте хомоцистеина и једињења укључених у његов метаболизам у карциномима нервнoг ткива. У том смислу још увек није познато да ли се дејства хомоцистеина и ових једињења према карциномима мозга могу посматрати као позитивна или негативна, нарочито ако се узме у обзир оскудност резултата тј. мали број студија које су се бавиле овом проблематиком (102). Експериментални подаци добијени из студија на ћелијским линијама хуманог глиобластома показују да ове ћелије умиру у случају апликације Д,Л-хомоцистеина у концентрацији од 50 μM (103).

Ови налази сугеришу да хомоцистеин у ситуацијама својих повишених вредности (хиперхомоцистеинемија) може да се понаша као цитостатски агенс према ћелијама овог карцинома путем индукције апоптозе глијалних ћелија (103).

Са друге стране, једна ретроспективна студија сугерисала је да се серумски ниво витамина В12 може користити као прогностички показатељ времена преживљавања код пацијената са метастатским карциномом нервног ткива (104). Ризик се повећава са повишеним нивоом витамина В12, углавном у првој години периода праћења, што указује на то да се ниво витамина В12 може користити као дијагностички маркер карцинома. Поред тога, утврђена је веза између повишеног нивоа витамина В12 и лошијег исхода преживљавања кацинома (104).

Претходна истраживања индикују да се суплементација фолатима може користити као помоћно терапеутско средство у лечењу глиома ради ограничавања нивоа метилације ДНК, будући да она доводи до лошије прогнозе код пацијената са мултиформним глиобластом (105). Узимајући у обзир све представљене податке, може се уочити да је ефекат хомоцистеина, фолне киселине и витамина В12 на формирање, развој и исход лечења код пацијената са карциномима мозга веома интригантно питање, чији одговор захтева додатно експериментално и клиничко истраживање. У литератури нема довољно података о учесталости повишених нивоа хомоцистеина у крви, као ни о поремећајима фолне киселине и витамина В12 код малигних тумора мозга.

Повезаност метаболизма хомоцистеина и физиолошких и патолошких процеса у централном нервном систему је последњих деценија у великој мери истраживана и данас остала више него актуелна. Ова истраживања су се у почетку заснивала пре свега на добро познатој способности хомоцистеина да индукује поремећаје унутар можданог васкуларног корита (106-108), да би се временом ово подручје конекције померило и на друге механизме. Тако је уочено да хомоцистеин може да се понаша као фактор ризика за развој атрофије мозга како код здравих испитаника тако и код особа које болују од Алцајмерове болести (109, 110). Студије пресека су показале да постоји обрнута пропорционалност између повишених нивоа хомоцистеина и очуваности когнитивних функција у здравој популацији (111, 112).

Улоге хомоцистеина у можданим функционалним и морфолошким дешавањима и променама би се могла објаснити на више начина. Наиме, познато је да хомоцистеин остварује проатерогена и протромботичка својства. У том смислу, могуће је да изазива повећање пролиферације глатких мишића, смањену активност инхибиторних антикоагулантних фактора, повећање агрегације тромбоцита, и у крајњем оштећење ендотел зависне артеријске вазодилатације (113).

Студије на животињским моделима су указале се да хомоцистеин у можданом ткиву индукује ексцитотоксичност посредовану Н-метил-Д-аспартатним рецепторима, затим да доводи до митохондријске дисфункције и стимулише апоптозу (114-117). У једној од недавних студија која се може употребити за компарацију са нашом испитивана је повезаност концентрације хомоцистеина и различитих можданих параметара код особа старости од 60 до 64 године. Спроведена је детаљна анализа односа вредности хомоцистеина са мерама атрофије мозга, леукоараиозе и когнитивне функције помоћу квантитативних мера (118). Иако ови испитаници нису имали недостатак фолне киселине и витамина В12 уз генерално очувану бубрежну функцију, концентрација хомоцистеина је била у негативној корелацији са нивоом фолата и витамина В12. На крају је закључено да су нивои хомоцистеина независно повезани са леукоараиозом код мушкараца што може бити функционално релевантно у смислу благих когнитивних оштећења (118).

Због тога се предлаже да би са санацијом хиперхомоцистеинемије требало започети што раније како би се његови штетни ефекти на мозак превенирали са већом сигурношћу (118).

У првом делу овог истраживања смо пре свега желели да утврдимо да ли вредности хомоцистеина и витамина В9 и В12 могу бити у корелацији са патохистолошким налазом односно да ли се више вредности хомоцистеина а ниже поменутих витамина срећу код малигнух тумора мозга у односу на бенигне.

Приликом анализе резултата укупног хомоцистеина можемо уочити: 1. вредности хомоцистеина се нису битније разликовале код испитаника са бенигнум у односу на оне са малигнум туморима мозга како пре саме интервенције тако ни у испитиваним временима након ње. То показује да са аспекта компарације између типа патохистолошког налаза, укупни хомоцистеин нема предиктивни значај. 2. динамика промене ове аминокиселине се није значајније мењала током временских инстанци мерења без обзира на то да ли се ради о бенигнум или малигнум туморима мозга, чиме смо указали да ни у овом погледу не можемо узети вредности хомоцистеина у обзир са прогностичког становишта.

Када је реч о фолној киселини добили смо нешто другачија сазнања. Наиме, иако су просечне вредности фолне киселине иницијално (преоперативно) биле ниже код пацијената са малигнум туморима мозга, након хируршке интервенције забележен је њихов пораст у свим временима мерења у односу на пацијенте са бенигнум туморима мозга. Ово показује да вредности фолне киселине не морају бити повезане са лошијим типом патохистолошке дијагнозе. Додатно, више вредности овог витамина током целокупног периода праћења код испитаника са малигнум туморима мозга сугерише да је његова повезаност са овим типом тумора значајнија, што ће се доказати у другом делу студије приликом анализирања диманике вредности овог витамина код прогресије болести.

Резултати витамина В12 су имали готово идентичну динамику, с тим што се његове више вредности преоперативно повезују са лошијим типом патохистолошке дијагнозе. Ови резултати индикују да се за разлику од витамина В6, вредности витамина В12 могу разматрати обрнуто пропорционално у склопу предикције појаве неповољног патохистолошког типа тумора мозга.

У целини узевши након ово дела наше студије можемо извести следеће закључке: 1. са аспекта поређења између типа патохистолошког налаза односно разлике између бенигнух и малигнух тумора мозга, вредности укупног хомоцистеина немају прогностички значај; 2. инцијалне вредности фолне киселине нису биле повезане са лошијим типом патохистолошке дијагнозе; 3. више вредности фолне киселине током целокупног периода праћења код испитаника са малигнум туморима мозга сугерише да је његова повезаност са овим типом тумора значајнија; 4. вредности витамина В12 могу се разматрати обрнуто пропорционално у склопу предикције појаве неповољног патохистолошког типа тумора мозга.

Корелација поремећаја метионинског циклуса и појаве различитих врста тумора је без сумње доказана у различитим истраживањима (119-122). Тако је већ сада постало очигледно је да хиперхомоцистеинемија може довести до формирања бета-амилоидног пептида услед смањене метилације промоторске секвенце Ps I гена који кодира пресенилин (123). Осим тога, повишене вредности хомоцистеина у плазми могу изазвати неуротоксичност (124). Механизам ове токсичне активности укључује хиперактивацију глутаматних рецептора (125-128).

Приликом компарације наших сазнања са другим доступним студијама морамо истаћи неусаглашеност и оскудност релевантих литературних података. У једном од ретких истраживања испитиване су цитосолне фракције 73 хумана узорка ткива тумора ради одређивања концентрација укупног хомоцистеина, укупног цистеина и метионина (129). Као метода избора за детекцију испитиваних аминотиола се користила гасна хроматографија са пламеном детекцијом јонизације. Пронађени су значајно више вредности укупног хомоцистеина у ткиву аденома хипофизе и мултиформном глиобласту у поређењу са другим врстама тумора. За разлику од тога, концентрације метионина и цистеина се нису разликовале значајније у односу на врсту дијагностикованог тумора. Ово је један од ретких ако не и једини рад који проучава присуство аминотиола у хуманим можданим ткивима тумора чија сазнања указују да метаболизам хомоцистеина може бити директно укључен у формирање и прогресију малигних тумора мозга (129).

Неуротоксична својства хомоцистеина су проучавана у појединим студијама са циљем њиховог доказивања као и утврђивања механизма ових штетних ефеката (130). Тако је у једном од истраживања испитиван неуротоксични потенцијал хомоцистеина на глијалне ћелије коришћењем управо ћелијских линија глиобластома као модела за проучавање (130). Резултати ове студије су указали да је већ у концентрацији од 50 μM у медијуму културе Д,Л-хомоцистеин индуковао ћелијску смрт (130). Анализирајући ове налазе важно је напоменути да ове вредности хомоцистеина одговарају његовим концентрацијама које се јављају током благе хиперхомоцистеинемије што може бити од великог клиничког значаја и потврђује сазнања ове студије.

Механизми хомоситеином изазване неуротоксичности очекивано још увек нису сасвим јасни и до краја испитани. Једна од ранијих теорија сугерише да се негативни ефекти хомоцистеина у можданом ткиву остварују путем његове способности да утиче на мождане крвне судове и тиме мења транспорт материја између можданог ткива и крви (131).

Истраживања на ћелијским културама су забележила да хомоцистеин испољава своја токсична дејства на нервне ћелије и захваљујући могућности да се понаша као глутаматни агониста који активира и инотропне и метаботропне типове глутаматних канала. Овом активацијом долази до последичног утицаја на интрацелуларну сигнализацију калијума (132-134). Наредни механизам штетног дејства хомоцистеина подразумева формирање слободних радикала и промоцију оксидационог стреса а тиме и оксидационих оштећења неурона (135).

Са друге стране, корелација метаболизма витамина В9 и В12 и појаве и прогресије можданих тумора је проучавана и на дечијем узрасту (136). Студија Греенор и коаутора је показала да се унос витамина В6 и В12 не доводи у везу са ризиком од формирања дечијих тумора мозга, за разлику од фолне киселине чија се суплементација у високом обиму повезује са смањеним ризиком од појаве ових тумора (136).

У једној од последњих студија на ћелијским културама је испитиван метионин зависни раст туморских ћелијских линија (137). Добијени резултати су показали да егзогено апликован метионин неизоставно доводи до генезе туморских формација. Осим тога, у случају ћелијских линија глиобластома накнадно додавање субстрата фолатног циклуса није било повезано са повећањем њихових изоформи код ових ћелија (137).

Имајући у виду доминантан циљ спроведеног истраживања односно акценат на могућу предиктивну улогу хомоцистеина, витамина В9 и В12 код пацијената са малигним обољењима мозга, у дискусији ћемо се пре свега осврнути на ове налазе. У осврту на коментарисање резултата ове студије.

Као што је већ поменуто, у главном делу наше студије желели смо да испитамо да ли се хомоцистеин и поменути В витамини могу користити као прогностички биомаркери код пацијената са дијагностикованим примарним туморима мозга (анапластични астроцитом и глиобластома мулриформе). Ова процена је испитивана кроз два аспекта: 1. путем праћења динамике њихових вредности током периода праћења односно четири временске инстанце од интереса (преоперативно и 1 месец, 3 месеца и 6 месеци постоперативно) и 2. путем процене њихових вредности у односу на постојање прогресије болести (како би се њихов предиктивни значај додатно потврдио).

Узевши поменуто у обзир приликом анализе наших резултата можемо уочити да се преоперативна концентрација хомоцистеина показала вишом код пацијената са прогресијом болести у поређењу са пацијентима код којих болест није унапредовала, при чему су вредности хомоцистеина код пацијената код којих је болест унапредовала биле ван физиолошког опсега. Ови резултати се могу тумачити у складу са већ претходно поменутом чињеницом да ћелије тумора немају способност да метаболишу хомоцистеин даље у метионин, што за последицу доводи до повећања концентрације истог (138). Ова тврдња је поткрепљена и налазом да је након обављеног хируршког захвата код пацијената дошло до смањења концентрације хомоцистеина.

У даљем тумачењу добијених сазнања се увиђа да је концентрација хомоцистеина остала значајно већа код пацијената код којих је болест унапредовала у поређењу са пацијентима код којих болест није унапредовала, чак и шест месеци након хируршког одстрањивања тумора, али остајући у физиолошким границама. Ово потенцијално значи да се мерење вредности хомоцистеина може потенцијално размотрити као маркер канцерогенезе и праћење прогресије малигну обољења мозга.

Увидом у литературне податке запажа се да постојеће студије препознају хомоцистеин као потенцијалног индикатора исхода код пацијената у току лечења, док хиперхомоцистеинемија може бити предиктивни фактор ризика за карциногенезу (139). Такође, према постојећим информацијама, поремећај метаболизма хомоцистеина може бити повезан са присуством канцера (140). Повишена и значајна концентрација укупног хомоцистеина утврђена је у различитим врстама карцинома, указујући на веома важну прогностичку улогу овог молекула у канцерогенези (141-145).

Штавише, код ових пацијената укупна концентрација хомоцистеина може бити предиктивни маркер кардиоваскуларних поремећаја узимајући у обзир чињеницу да је хомоцистеин важан фактор ризика за настанак атеросклерозе, болести коронарних артерија, цереброваскуларне болести, болести периферних крвних судова, инфаркта миокарда као и за свеукупни морбидитет и морталитет код кардиоваскуларних обољења (146). Према томе, он се може сматрати и могућим маркером за превенцију кардиоваскуларних поремећаја у овој популацији пацијената.

Редовним уносом фолата и витамина В6 у склопу дневне исхране или путем суплемената може се смањити ризик за настанак кардиоваскуларних болести (146), с обзиром на то да фолна киселина и комплекс витамина В заузимају важно место у метаболизму хомоцистеина, те да се ниво хомоцистеина може повећати код мањих или већих недостатака ових витамина (147, 148). Из претходно изнетог можемо запазити да постоји реципрочна повезаност између концентрација хомоцистеина у плазми и концентрације фолата.

На овом месту долазимо до првог испитиваног витамина који због своје улоге у метаболизму хомоцистеина може имати прогностичку вредност код ових пацијената – витамин В9 (фолна киселина). Вредности овог витамина су биле ниже код обе групе (без обзира на прогресију болести) пре, односно дошло је до њиховог пораста након операције. Веће вредности фолне киселине су уочене и код пацијената без прогресије болести, током читавог периода праћења. Најниже вредности фолата а највеће вредности хомоцистеина су пронађене преоперативно, код пацијената са прогресијом болести. На основу резултата поменутих у овом пасусу постаје јасније следеће: 1. изгледа да постоји повезаност између одстрањења тумора и пораста концентрације фолне киселине код ових пацијената; 2. ово може бити у корелацији и са високим вредностима хомоцистеина код пацијената код којих су фолати били најнижи; 3. фолна киселина *per se* нема односно има мањи предиктивни значај са аспекта прогресије тумора у односу на укупни хомоцистеин, али њене ниске вредности додатно оснажују становиште које хомоцистеин заузима.

Ниже вредности фолата се јављају и код благих до умерених хиперхомоцистеинија, удружених са различитим поремећајима (149), укључујући и убрзану карциногенезу (150). Недовољне концентрације фолата и повишени ниво серумског хомоцистеина повезани су са повећаним укупним ризиком за настанак тумора (151).

Снижена концентрација фолата у плазми такође се повезује са измењеном метилацијом ДНК, која је присутна у многим болестима, укључујући и туморе. Известан степен метилације ДНК се среће и током нормалног развоја генома и приликом његове регулације (152). Код многих врста тумора, попут метастатског тумора простате, хроничних лимфоцитних тумора и хепатоцелуларног карцинома, смањена геномска метилација повезана је са повећаним ризиком од настанка рака (153). Осим тога, регионална хипометилација ДНК секвенци примећена је у раним фазама настанка тумора, као и у хиперплазији и абнормалном не-неопластичном ткиву (153).

Недостатак фолата се доводи у везу са патогенезом различитих карцинома као што су колоректални карцином, карцином дојке, јајника, панкреаса, различити тумори мозга, карцином плућа и карцином грлића материце (154). Међутим, код пацијената оболелих од тумора ниже концентрације фолне киселине су очекиване. Главни разлог за дефицијентне вредности фолне киселине је тај што су туморским ћелијама потребни фолати за *de novo* синтезу пурина, при чему недостатак надомешћују преузимањем фолата из крви (140).

Генерално анализирајући претходне резултате може се извести хипотетички закључак да недостатак фолне киселине у комбинацији са хиперхомоцистеинијом може бити предиктивни и прогностички показатељ за лошију прогнозу и прогресију болести код пацијената са малигним туморима мозга. Штавише, ове вредности се могу користити за процену ефикасности хируршког лечења, због чињенице да се концентрације ових параметара враћају у физиолошки опсег након операције.

Други испитивани витамин за кога се претпоставља да се може понашати као прогностички маркер код пацијената са малигним туморима мозга био је витамин В12. Слично као и приликом анализе резултата везаних за фолну киселину, и у случају витамина В12 није било разлике у његовим вредностима између у односу на прогресију болести, при чему су вредности овог параметра биле у физиолошком распону.

На овај начин витамин В12 такође *per se* нема предиктивни значај са аспекта прогресије тумора, чиме су потврђени налази у вези са фолном киселином као другим есенцијалним витамином из В комплекса који је укључен у метаболизам хомоцистеина.

Претходни подаци указују на то да оболели од тумора са повишеном концентрацијом витамина В12 имају већи морталитет у поређењу са пацијентима са нормалним вредностима овог витамина (155). Ови налази могу имати клинички значај за процену прогнозе пацијената оболелих од тумора (155). Додатно, ранија истраживања су открила да се код пацијената са метастатским туморима, укључујући и неуролошке туморе, концентрација витамина В12 у серуму може користити приликом процене дужине преживљавања (156). Високе концентрације витамина В12 могу такође бити и неспецифични маркер развоја и прогресије тумора (157, 158).

Са друге стране, постоје различита стања која код којих се јавља недостатак витамина В12, пре свега неуролошке или хематолошке болести, док се низак унос овог витамина исхраном среће код потхрањених пацијената, као што су старије особе и особе са претераном конзумацијом алкохола (159). Неке претходно спроведене студије сугеришу да концентрација витамина В12 у серуму можда није поуздан туморски маркер за друге врсте тумора, попут хепатоцелуларног карцинома, и није специфичан за ово стање (160), док су друге студије показале да ипак постоји веза између витамина В12 и хепатоцелуларног карцинома (161).

Ови резултати могу окарактерисати неспецифичну улогу витамина В12 у карциногенези због различитих мишљења о могућој улози овог витамина као предиктора клиничких карактеристика код пацијената са карциномом. Претходно истраживање (162) на пацијентима са неуробластомом показало је да су пацијенти са овим тумором имали незнатно, али не и значајно ниже вредности витамина В12 у серуму у поређењу са здравим испитаницима. Такође ниједан од испитаника није имао концентрацију серумског витамина В12 мању од 150 pg/ml, која је карактеристична за дефицит овог витамина.

Ови налази указују на то да су концентрације витамина В12 у серуму у границама нормале и да нема доказа о његовом недостатку у групи пацијената са неуробластомом. Стога су ови резултати у корелацији са нашим истраживањем, где је концентрација витамина В12 била у физиолошком распону код пацијената како са тако и без малигног тумора мозга (162). Изузимајући податак да се ниво витамина В12 није променио код пацијената са малигним туморима мозга, претходно истраживање је показало да чак и код пацијената са нормалним серумским вредностима, лечење витамином В12 може имати благотворне ефекте код пацијената са малигнитетом (163).

На крају, сумарно посматрано налази овог дела наше студије показују да се концентрација укупног хомоцистеина у крви може узети у обзир као евентуални индикатор за праћење примарних малигнух тумора мозга како пре тако и после хируршке интервенције. Овај молекул такође има потенцијал да се посматра и као рани маркер канцерогенезе и напредовања болести.

Садашњи налази указују да присуство хиперхомоцистеинемије уз истовремени недостатак фолне киселине додатно поткрепљује оправданост разматрања хомоцистеина као предиктивног маркера код малигнух тумора мозга.

Ипак, неопходно је истаћи да су потребна даља и комплекснија истраживања на већем броју испитаника како би се сви претходно изнети закључци потврдили и тиме повећала релевантност и клиничка примењивост наших резултата.

VI
ЗАКЉУЧАК

Узевши у обзир добијене резултате могу се извести следећи закључци:

1. Како се вредности хомоцистеина нису битније разликовале код испитаника са бенигним у односу на оне са малигним туморима мозга како пре тако и након операције, закључујемо да са аспекта компарације између типа патохистолошког налаза, укупни хомоцистеин нема предиктивни значај.
2. Динамика промене хомоцистеина се није значајније мењала током временских инстанци мерења без обзира на то да ли се ради о бенигним или малигним туморима мозга, чиме смо показали да ни у овом погледу не можемо узети вредности хомоцистеина у обзир са прогностичког становишта.
3. Иако су просечне вредности фолне киселине преоперативно биле ниже код пацијената са малигним туморима мозга, након хируршке интервенције забележен је њихов пораст у свим временима мерења у односу на пацијенте са бенигним туморима мозга. Ово показује да вредности фолне киселине не морају бити повезане са лошијим типом патохистолошке дијагнозе. Додатно, више вредности овог витамина током целокупног периода праћења код испитаника са малигним туморима мозга сугерише да је његова повезаност са овим типом тумора значајнија, што је доказано у другом делу студије приликом испитивања динамике вредности овог витамина код прогресије болести.
4. Вредности витамина В12 могу се разматрати обрнуто пропорционално у склопу предикције појаве неповољног патохистолошког типа тумора мозга.
5. Преоперативна концентрација хомоцистеина показала се вишом код пацијената са прогресијом болести у поређењу са пацијентима код којих болест није узрапредовала, при чему су вредности хомоцистеина код пацијената код којих је болест узрапредовала биле ван физиолошког опсега.
6. Концентрација хомоцистеина била је значајно већа код пацијената код којих је болест узрапредовала у поређењу са пацијентима код којих болест није узрапредовала, чак и шест месеци након хируршког одстрањивања тумора, али остајући у физиолошким границама. Ово потенцијално значи да се мерење вредности хомоцистеина може евентуално размотрити као маркер прогресије малигних обољења мозга.
7. Изгледа да постоји повезаност између одстрањења карцинома и пораста концентрације фолне киселине код ових пацијената. Ово указује да фолна киселина *per se* нема односно има мањи предиктивни значај са аспекта прогресије тумора у односу на укупни хомоцистеин, али њене ниске вредности додатно оснажују предиктивно становиште које хомоцистеин заузима.
8. Генерално анализирајући претходне резултате може се извести хипотетички закључак да ниже вредности фолне киселине у комбинацији са хиперхомоцистеинемијом могу бити прогностички показатељ за лошију прогнозу и прогресију болести код пацијената са малигним туморима мозга. Штавише, ове вредности се могу користити за процену ефикасности хируршког лечења, због чињенице да се концентрације ових параметара враћају у физиолошки опсег након операције.
9. Витамин В12 такође *per se* нема предиктивни значај са аспекта прогресије тумора, чиме су потврђени налази у вези са фолном киселином као другим есенцијалним витамином из В комплекса који је укључен у метаболизам хомоцистеина.
10. Потребна су даља и комплекснија истраживања на већем броју испитаника како би се сви претходно изнети закључци потврдили и тиме повећала релевантност и клиничка примењивост наших резултата.

VII
ЛИТЕРАТУРА

ЛИТЕРАТУРА:

1. Butz LW, du Vigneaud V. The formation of a homologue of cystine by the decompensation of methionine with sulphuric acid. *J Biol Chem* 1932; 99:135–142.
2. du Vigneaud V, Patterson WJ, Hunt M. Opening of the ring of the thiolactone of homocysteine. *J Biol Chem*. 1938; 126: 217-31.
3. The Nobel Prize in Chemistry. Nobelprize.org. Nobel Media AB 2013; 25-98.
4. McCully KS. Vascular pathology of homocysteinemia: implications for the pathogenesis of arteriosclerosis. *Am J Pathol*. 1969;56(1):111-28.
5. Clarke R, Daly L, Robinson K, Waughton E, Cahalane S, Fowler B, et al. Hyperhomocysteinemia: an independent risk factor for vascular disease. *New Engl J Med*. 1991;324:1149-1155.
6. Chrysant SG, Chrysant GS. The current status of homocysteine as a risk factor for cardiovascular disease: a mini review. *Expert Rev Cardiovasc Ther*. 2018 Aug;16(8):559-565.
7. Brosnan JT, Jacobs LR, Stead ML, Brosnan EM. Methylation demand: a key determinant of homocysteine metabolism. *Acta Biochim Pol*. 2004; 51:405-13.
8. Finkelstein JD. The metabolism of homocysteine: pathways and regulation. *Eur J Pediatr*. 1998;157(2):S40-4.
9. Locasale JW. Serine, glycine and one-carbon units: cancer metabolism in full circle. *Nat Rev Cancer*. 2013;13:572–583.
10. Vučinić B, Radovanović D, Čanović D, Pavlović M, Lazić D, Spasić M, et al. Uloga hiperhomocisteinemije u nastanku postoperativnih vaskularnih komplikacija. *Med Čas (Krag) / Med J (Krag)* 2016;50(2):54-62.
11. Hasan T, Arora R, Bansal AK, Bhattacharya R, Sharma GS, Singh LR. Disturbed homocysteine metabolism is associated with cancer. *Exp Mol Med*. 2019;51(2):1-13.
12. Ganguly P, Alam SF. Role of homocysteine in the development of cardiovascular disease. *Nutr J*. 2015;10;14:6.
13. Park WC, Chang JH. Clinical Implications of Methylenetetrahydrofolate Reductase Mutations and Plasma Homocysteine Levels in Patients with Thromboembolic Occlusion. *Vasc Specialist Int*. 2014;30(4):113-9.
14. van Beynum IM, Smeitink JA, den Heijer M, te Poele Pothoff MT, Blom HJ. Hyperhomocysteinemia: a risk factor for ischemic stroke in children. *Circulation* 1999; 99:2070-2.
15. Nowak-Gottl U, Strater R, Heinecke A, Junker R, Koch HG, Schuierer G, et al. Lipoprotein (a) and genetic polymorphisms of clotting factor V, prothrombin, and methylenetetrahydrofolate reductase are risk factors of spontaneous ischemic stroke in childhood. *Blood* 1999; 94:3678-82.
16. Janson JJ, Galarza CR, Murúa A, Quintana I, Przygoda PA, Waisman G, et al. Prevalence of hyperhomocysteinemia in an elderly population. *Am J Hypertens*. 2002;15(5):394-7.
17. Desouza C, Keebler M, McNamara DB, Fonseca V. Drugs affecting homocysteine metabolism: impact on cardiovascular risk. *Drugs*. 2002;62:605–616.
18. Norouzi V, Seifi M, Fallah S, Korani M, Samadikuchaksaraei A. Effect of oral contraceptive therapy on homocysteine and C-reactive protein levels in women: an observational study. *Anadolu Kardiyol Derg*. 2011;11:698–702.
19. Jhee KH, Kruger WD. The role of cystathionine beta-synthase in homocysteine metabolism. *Antioxid Redox Signal*. 2005;7:813–22.

20. Vaughn JD, Bailey LB, Shelnutz KP, Dunwoody KM, Maneval DR, Davis SR, et al. Methionine synthase reductase 66A → G polymorphism is associated with increased plasma homocysteine concentration when combined with the homozygous methylenetetrahydrofolate reductase 677C → T variant. *J Nutr.* 2004;134:2985–90.
21. Ubbink JB, Vermaak WJ, van der Merwe A, Becker PJ. Vitamin B-12, vitamin B-6, and folate nutritional status in men with hyperhomocysteinemia. *Am J Clin Nutr.* 1993;57:47–53.
22. Ferechide D, Radulescu D. Hyperhomocysteinemia in renal diseases. *J Med Life.* 2009;2(1):53-59.
23. Hogeveen M, Blom HJ, Van Amerongen M, Boogmans B, Van Beynum IM, Van De Bor M. Hyperhomocysteinemia as risk factor for ischemic and hemorrhagic stroke in newborn infants. *J Pediatr* 2002; 141:429-31.
24. Refsum H, Wesenberg F, Ueland PM. Plasma homocysteine in children with acute lymphoblastic leukemia: changes during a chemotherapeutic regimen including methotrexate. *Cancer Res* 1991; 51:828-35.
25. Prasad K. Homocysteine, a Risk Factor for Cardiovascular Disease. *Int J Angiol.* 1999;8(1):76-86.
26. Castro R, Rivera I, Blom HJ, Jakobs C, Tavares de Almeida I. Homocysteine metabolism, hyperhomocysteinemia and vascular disease: an overview. *J Inherit Metab Dis.* 2006;29(1):3-20.
27. Schalinske KL, Smazal AL. Homocysteine imbalance: a pathological metabolic marker. *Adv Nutr.* 2012;3(6):755-62.
28. Borowska M, Dworacka M, Winiarska H, Krzyżagórska E. Homocysteine as a non-classical risk factor for atherosclerosis in relation to pharmacotherapy of type 2 diabetes mellitus. *Acta Biochim Pol.* 2017;64(4):603-607.
29. Hayden MR, Tyagi SC. Homocysteine and reactive oxygen species in metabolic syndrome, type 2 diabetes mellitus, and atheroscleropathy: the pleiotropic effects of folate supplementation. *Nutr J.* 2004;3:4–27.
30. Cheng Z, Yang X, Wang H: Hyperhomocysteinemia and endothelial dysfunction. *Curr Hypertens Rev* 2009;5:158-165.
31. McDowell IF, Lang D: Homocysteine and endothelial dysfunction: a link with cardiovascular disease. *J Nutr* 2000;130(2S suppl):369S-372S
32. Perna AF, Ingrosso D, De Santo NG. Homocysteine and oxidative stress. *Amino Acids.* 2003 Dec;25(3-4):409-17.
33. Finch JM, Joseph J. Homocysteine, cardiovascular inflammation, and myocardial remodeling. *Cardiovasc Hematol Disord Drug Targets.* 2010;10(4):241-5.
34. Papatheodorou L, Weiss N. Vascular oxidant stress and inflammation in hyperhomocysteinemia. *Antioxid Redox Signal.* 2007;9(11):1941-58.
35. Seshadri S, Beiser A, Selhub J, Jacques PF, Rosenberg IH, D'Agostino RB, et al. Plasma homocysteine as a risk factor for dementia and Alzheimer's disease. *N Engl J Med.* 2002; 346(7):476-83.
36. Zhuo JM, Praticò D. Normalization of hyperhomocysteinemia improves cognitive deficits and ameliorates brain amyloidosis of a transgenic mouse model of Alzheimer's disease. *FASEB J.* 2010; 24(10):3895-902.
37. Cheng D, Kong H, Pang W, Yang H, Lu H, Huang C, et al. B vitamin supplementation improves cognitive function in the middle aged and elderly with hyperhomocysteinemia. *Nutr Neurosci.* 2016;19(10):461-466.
38. Kwok T, Lee J, Law CB, Pan PC, Yung CY, Choi KC, et al. A randomized placebo controlled trial of homocysteine lowering to reduce cognitive decline in older demented people. *Clin Nutr.* 2011; 30(3):297-302.

39. Zylberstein DE, Lissner L, Björkelund C, Mehlig K, Thelle DS, Gustafson D, et al. Midlife homocysteine and late-life dementia in women. A prospective population study. *Neurobiol Aging*. 2011 Mar; 32(3):380-6.
40. Oulhaj A, Refsum H, Beaumont H, Williams J, King E, Jacoby R, et al. Homocysteine as a predictor of cognitive decline in Alzheimer's disease. *Int J Geriatr Psychiatry*. 2010 Jan; 25(1):82-90.
41. Alam SF, Kumar S, Ganguly P. Measurement of homocysteine: a historical perspective. *J Clin Biochem Nutr*. 2019;65(3):171-177.
42. Ubbink JB. Assay methods for the measurement of total homocyst(e)ine in plasma. *Semin Thromb Hemost* 2000; 26: 233–241.
43. Walker V, Mills GA. Quantitative methods for amino acid analysis in biological fluids. *Ann Clin Biochem*. 1995; 32 (Pt 1):28-57.
44. Powers HJ, Moat SJ. Developments in the measurement of plasma total homocysteine. *Curr Opin Clin Nutr Metab Care*. 2000 Sep; 3(5):391-7.
45. Jiang Y, Mistretta B, Elsea S, Sun Q. Simultaneous determination of plasma total homocysteine and methionine by liquid chromatography-tandem mass spectrometry. *Clin Chim Acta* 2017; 464: 93–97.
46. Malinow MR, Kang SS, Taylor LM, Wong PW, Coull B, Inahara T, et al. Prevalence of homocysteinemia in patients with peripheral arterial occlusive disease. *Circulation*. 1989;79(6):1180–8.
47. Boushey CJ, Beresford SA, Omenn GS, Motulsky AG. A quantitative assessment of plasma homocysteine as a risk factor for vascular disease, probable benefits of folic acid intake. *JAMA*. 1995;274(13):1049–57.
48. Malinow MR, Ducimetiere P, Luc G, Evans AE, Arveiler D, Cambien F, et al. Plasma homocysteine levels and graded risk for myocardial infarction: findings in two populations at contrasting risk for coronary heart disease. *Atherosclerosis*. 1996;126:27–34.
49. Scott JM, Molloy AM. The discovery of vitamin B(12). *Ann Nutr Metab*. 2012;61(3):239-45.
50. Pubchem.com. Cyanocobalamin. Доступно на: <https://pubchem.ncbi.nlm.nih.gov/#query=vitamin%20b12>; Последњи пут посећено: 29.7.2021.
51. Thakkar K, Billa G. Treatment of vitamin B12 deficiency-methylcobalamine? Cyanocobalamine? Hydroxocobalamine?-clearing the confusion. *Eur J Clin Nutr*. 2015 Jan;69(1):1-2.
52. Fedosov SN, Brito A, Miller JW, Green R, Allen LH. Combined indicator of vitamin B12 status: modification for missing biomarkers and folate status and recommendations for revised cut-points. *Clin. Chem Lab Med*. 2015;53:1215–1225.
53. Green R, Allen LH, Bjørke-Monsen AL, Brito A, Guéant JL, Miller JW, et al. Vitamin B12 deficiency. *Nat Rev Dis Prim*. 2017;3:17040.
54. Rasmussen K, Møller J, Lyngbak M, Pedersen AM, Dybkjaer L. Age- and gender-specific reference intervals for total homocysteine and methylmalonic acid in plasma before and after vitamin supplementation. *Clin Chem*. 1996;;42(4):630-6.
55. Herrmann W, Obeid R, Schorr H, Geisel J. Functional vitamin B12 deficiency and determination of holotranscobalamin in populations at risk. *Clin Chem Lab Med* 2003; 41:1478-88.
56. Nexo E, Hoffmann-Lücke E. Holotranscobalamin, a marker of vitamin B-12 status: analytical aspects and clinical utility. *Am J Clin Nutr*. 2011;94(1):359S-365S.

57. Honein MA, Paulozzi LJ, Mathews TJ, Erickson JD, Wong LY. Impact of folic acid fortification of the US food supply on the occurrence of neural tube defects. *JAMA*. 2001;285(23):2981-6.
58. Pietrzik K, Bailey L, Shane B. Folic acid and L-5-methyltetrahydrofolate: comparison of clinical pharmacokinetics and pharmacodynamics. *Clin Pharmacokinet*. 2010;49(8):535-48.
59. Appling DR. Compartmentation of folate-mediated one-carbon metabolism in eukaryotes. *Faseb J* 1991;5:2645–51.
60. Sobczyńska-Malefora A, Harrington DJ. Laboratory assessment of folate (vitamin B9) status. *J Clin Pathol*. 2018;71(11):949-956.
61. Harrington DJ. Investigation of megaloblastic anaemia: cobalamin, folate and metabolite status. *Dacie and Lewis Practical Haematology*. B Bain ML&IB: Elsevier, 2016:187–213.
62. Scott J, Weir D. Folate/vitamin B12 inter-relationships. *Essays Biochem* 1994;28:63–72.
63. Hillman R, Kenneth A, Henry M. Red blood cells disorders. In: Hillman R, Kenneth A, Henry M, editors. *Hematology in clinical practice: a guide to diagnosis and management*. 4th ed .The McGraw-Hill Companies, Inc; 2005. p. 98-9
64. WHO. Serum and red blood cell folate concentrations for assessing folate status in populations.WHO/NMH/NHD/EPG/15.01.2015. Vitamin and Mineral Nutrition Information System. 2015
65. Galukande M, Jombwe J, Fualal J, Baingana R, Gakwaya A. Reference values for serum levels of folic acid and vitamin B12 in a young adult Ugandan population. *Afr Health Sci*. 2011;11(2):240-3.
66. Benton D, Haller J, Fordy J. The vitamin status of young British adults. *Int J Vitam Nutr Res*. 1997;67(1):34-40.
67. Semmler A, Simon M, Moskau S, Linnebank M. The methionine synthase polymorphism c.2756A>G alters susceptibility to glioblastoma multiforme. *Cancer Epidemiol Biomarkers Prev*. 2006;15(11):2314-6.
68. Wilson TA, Karajannis MA, Harter DH. Glioblastoma multiforme: State of the art and future therapeutics. *Surg Neurol Int*. 2014;5:64.
69. Grimm SA, Chamberlain MC. Anaplastic astrocytoma. *CNS Oncol*. 2016;5:145-57.
70. Linnebank M, Schmidt S, Kolsch H, Linnebank A, Heun R,Schmidt-Wolf IGH, et al. The methionine synthase polymorphism D919G alters susceptibility to primary central nervous system lymphoma. *Br J Cancer* 2004;90:1969–71.
71. Ma J, Stampfer MJ, Christensen B, Giovannucci E, Hunter DJ, Chen J, et al. A polymorphism of the methionine synthase gene: association with plasma folate, vitamin B12, homocyst(e)ine, and colorectal cancer risk. *Cancer Epidemiol Biomarkers Prev* 1999;8:825–9.
72. Ulvik A, Vollset SE, Hansen S, Gislefoss R, Jellum E, Ueland PM. Colorectal cancer and the methylenetetrahydrofolate reductase 677C→T and methionine synthase 2756A→G polymorphisms: a study of 2,168 case-control pairs from the JANUS cohort. *Cancer Epidemiol Biomarkers Prev* 2004;13:2175–80.
73. Henaol OL, Piyathilake CJ, Waterbor JW, Funkhouser E, Johanning GL, Heimburger DC, et al. Women with polymorphisms of methylenetetrahydrofolate reductase (MTHFR) and methionine synthase (MS) are less likely to have cervical intraepithelial neoplasia (CIN) 2 or 3. *Int J Cancer* 2005;113:991–7.
74. Fodinger M, Horl WH, Sunder-Plassmann G. Molecular biology of 5,10-methylenetetrahydrofolate reductase. *J Nephrol* 2000;13:20–33.

75. Škovierová H, Mahmood S, Blahovcová E, Hatok J, Lehotský J, Murín R. Effect of homocysteine on survival of human glial cells. *Physiol Res.* 2015;64(5):747-54.
76. Takano N, Sarfraz Y, Gilkes DM, Chaturvedi P, Xiang L, Suematsu M, et al. Decreased expression of cystathionine β -synthase promotes glioma tumorigenesis. *Mol Cancer Res.* 2014;12(10):1398-1406.
77. Bičíková M, Kříž L, Mohapl M, Burkoňová D, Tallová J, Hušek P. Amino thiols in human brain tumors. *Clin Chem Lab Med.* 2006;44(8):978-82.
78. Schrier MS, Trivedi MS, Deth RC. Redox-Related Epigenetic Mechanisms in Glioblastoma: Nuclear Factor (Erythroid-Derived 2)-Like 2, Cobalamin, and Dopamine Receptor Subtype 4. *Front Oncol.* 2017;7:46.
79. Zelder F, Sonnay M, Prieto L. Antivitamins for Medicinal Applications. *Chembiochem.* 2015;16(9):1264-78.
80. Battaglia-Hsu SF, Akchiche N, Noel N, Alberto JM, Jeannesson E, Orozco-Barrios CE, et al. Vitamin B12 deficiency reduces proliferation and promotes differentiation of neuroblastoma cells and up-regulates PP2A, proNGF, and TACE. *Proc Natl Acad Sci U S A.* 2009;106(51):21930-5.
81. Rzepka Z, Rok J, Maszczyk M, Beberok A, Hermanowicz JM, Pawlak D, et al. Response of Human Glioblastoma Cells to Vitamin B12 Deficiency: A Study Using the Non-Toxic Cobalamin Antagonist. *Biology (Basel).* 2021;10(1):69.
82. Newell SD Jr, Kapp J, Romfh JH. Evaluation of megadose vitamin therapy in an experimental brain tumor. *Surg Neurol.* 1981;16(2):161-4.
83. Guéant JL, Caillerez-Fofou M, Battaglia-Hsu S, Alberto JM, Freund JN, Dulluc I, et al. Molecular and cellular effects of vitamin B12 in brain, myocardium and liver through its role as co-factor of methionine synthase. *Biochimie.* 2013; 95(5):1033-40.
84. Grønbaek K, Hother C, Jones P. Epigenetic changes in cancer. *APMIS* 2007;115:1039–59.
85. Baylin S, Bestor T. Altered methylation patterns in cancer cell genomes: cause or consequence? *Cancer Cell* 2002;1:299–305.
86. Widschwendter M, Jones P. DNA methylation and breast carcinogenesis. *Oncogene* 2002;21(35):5462–82.
87. Hervouet E, Debien E, Campion L, Charbord J, Menanteau J, Vallette FM, et al. Folate supplementation limits the aggressiveness of glioma via the remethylation of DNA repeats element and genes governing apoptosis and proliferation. *Clin Cancer Res.* 2009;15(10):3519-29.
88. Liu N, Jiang J, Song YJ, Zhao SG, Tong ZG, Song HS, Wu H, Zhu JY, Gu YH, Sun Y, Hua W, Qi JP. Impact of MTHFR polymorphisms on methylation of MGMT in glioma patients from Northeast China with different folate levels. *Genet Mol Res.* 2013;12(4):5160-71.
89. Pouliquen D, Menanteau J, Loussouarn D, Martin SA, Campone M, Vallette FM. Folate supplementation limits the tumorigenesis in rodent models of gliomagenesis. *Eur J Cancer.* 2012;48(15):2431-41.
90. Ebbing M, Bønna KH, Nygård O, Arnesen E, Ueland PM, Nordrehaug JE, et al. Cancer incidence and mortality after treatment with folic acid and vitamin B12. *JAMA.* 2009;302(19):2119-26.
91. Stoffregen CC, Odin EA, Carlsson GU, Kurlberg GK, Björkqvist HG, Tångefjord MT, Gustavsson BG. Reduced folate and serum vitamin metabolites in patients with rectal carcinoma: an open-label feasibility study of pemetrexed with folic acid and vitamin B12 supplementation. *Anticancer Drugs.* 2016; 27(5):439-46.

92. Faul F, Erdfelder E, Lang AG, Buchner A. G Power 3. A flexible statistical power analysis program for the social, behavioral, and biomedical sciences. *Behav Res Methods* 2007; 39:175–191.
93. Sciacovelli M, Gaude E, Hilvo M, Frezza C. The metabolic alterations of cancer cells. *Methods Enzymol.* 2014;542:1-23.
94. Ashkavand Z, O'Flanagan C, Hennig M, Du X, Hursting SD, Krupenko SA. Metabolic Reprogramming by Folate Restriction Leads to a Less Aggressive Cancer Phenotype. *Mol Cancer Res.* 2017 Feb;15(2):189-200.
95. Konno M, Asai A, Kawamoto K, Nishida N, Satoh T, Doki Y, Mori M, Ishii H. The one-carbon metabolism pathway highlights therapeutic targets for gastrointestinal cancer (Review). *Int J Oncol.* 2017; 50(4):1057-1063.
96. Murín R, Vidomanová E, Kowtharapu BS, Hatok J, Dobrota D. Role of S-adenosylmethionine cycle in carcinogenesis. *Gen Physiol Biophys.* 2017;36(5):513-520.
97. Tastekin D, Erturk K, Bozbey HU, Olmuscelik O, Kiziltan H, Tuna S, Tas F. Plasma homocysteine, folate and vitamin B12 levels in patients with lung cancer. *Exp Oncol.* 2015 Sep;37(3):218-22.
98. Keshteli AH, Baracos VE, Madsen KL. Hyperhomocysteinemia as a potential contributor of colorectal cancer development in inflammatory bowel diseases: review. *World J Gastroenterol.* 2015;21(4):1081-90.
99. Cave DD, Desiderio V, Mosca L, Ilisso CP, Mele L, Caraglia M, Cacciapuoti G, Porcelli M. S-Adenosylmethionine-mediated apoptosis is potentiated by autophagy inhibition induced by chloroquine in human breast cancer cells. *J Cell Physiol.* 2018;233(2):1370-1383.
100. Benavides MA, Bosland MC, da Silva CP, Gomes Sares CT, de Oliveira AM, Kemp R, dos Reis RB, Martins VR, Sampaio SV, Bland KI, Grizzle WE, dos Santos JS. L-Methionine inhibits growth of human pancreatic cancer cells. *Anticancer Drugs.* 2014;25(2):200-3.
101. Nacci A, Dallan I, Bruschini L, Traino AC, Panicucci E, Bruschini P, et al. Plasma homocysteine, folate, and vitamin B12 levels in patients with laryngeal cancer. *Arch Otolaryngol Head Neck Surg* 2008; 134(12):1328-33.
102. Palanichamy K, Thirumoorthy K, Kanji S, Gordon N, Singh R, Jacob JR, Sebastian N, Litzenberg KT, Patel D, Bassett E, Ramasubramanian B, Lautenschlaeger T, Fischer SM, Ray-Chaudhury A, Chakravarti A. Methionine and kynurenine activate oncogenic kinases in glioblastoma, and methionine deprivation compromises proliferation. *Clin Cancer Res.* 2016; 22:3513–23.
103. Škovierová H, Mahmood S, Blahovcová E, Hatok J, Lehotský J, Murín R. Effect of Homocysteine on survival of human glial cells. *Physiol Res.* 2015; 64(5):747-54.
104. Oh HK, Lee JY, Eo WK, Yoon SW, Han SN. Elevated Serum Vitamin B(12) Levels as a Prognostic Factor for Survival Time in Metastatic Cancer Patients: A Retrospective Study. *Nutr Cancer.* 2018; 70(1):37-44.
105. Hervouet E, Debien E, Campion L, Charbord J, Menanteau J, Vallette FM, Cartron PF. Folate supplementation limits the aggressiveness of glioma via the remethylation of DNA repeats element and genes governing apoptosis and proliferation. *Clin Cancer Res.* 2009; 15(10):3519-29.
106. Fassbender K, Mielke O, Bertsch T, et al. Homocysteine in cerebral macroangiography and microangiopathy. *Lancet.* 1999;353:1586-1587.

107. Hogervorst E, Ribiero HM, Molyneux A, Budge M, Smith D. Plasma homocysteine levels, cerebrovascular risk factors, and cerebral white matter changes (leukoaraiosis) in patients with Alzheimer disease. *Arch Neurol.* 2002;59:787-793.
108. Sachdev PS, Valenzuela M, Brodaty H, et al. Homocysteine as a risk factor for cognitive impairment in stroke patients. *Dement Geriatr Cogn Disord.* 2003; 15:155-162.
109. Clarke R, Smith DA, Jobst KA, et al. Folate, vitamin B12, and serum total homocysteine levels in confirmed Alzheimer disease. *Arch Neurol.* 1998;55:1449-1455.
110. Seshadri S, Beiser A, Selhub J, et al. Plasma homocysteine as a risk factor for dementia and Alzheimer's disease. *N Engl J Med.* 2002;346:476-483.
111. Reutens S, Sachdev P. Homocysteine in neuropsychiatric disorders of the elderly. *Int J Geriatr Psychiatry.* 2002;17:859-864.
112. Looi JCL, Sachdev P. Vascular dementia as a frontal subcortical system dysfunction. *Psychol Med.* 2000;30:997-1003.
113. Tawakol A, Omland T, Gerhard M, Wu JT. Hyperhomocyst(e)inemia is associated with impaired endothelium-dependent vasodilation in humans. *Circulation.* 1997;95:1119-1121.
114. KimW-K, Pae Y-S. Involvement of N-methyl-D-aspartate receptor and free radical in homocysteine-mediated toxicity on rat cerebellar granule cells. *Neurosci Lett.* 1996;216:117-120.
115. Ho PI, Ortiz D, Rogers E, Shea TB. Multiple aspects of homocysteine neurotoxicity: glutamate excitotoxicity, kinase hyperactivation and DNA damage. *J Neurosci Res.* 2002;70:694-702.
116. Kruman II, Culmsee C, Chan SL, et al. Homocysteine elicits a DNA damage response in neurons that promotes apoptosis and hypersensitivity to excitotoxicity. *J Neurosci.* 2000;20:6920-6936.
117. Vafai S, Stock JB. Protein phosphatase 2A methylation: a link between elevated plasma homocysteine and Alzheimer's disease. *FEBS Lett.* 2002;518:1-4.
118. Sachdev P, Parslow R, Salonikas C, Lux O, Wen W, Kumar R, Naidoo D, Christensen H, Jorm A. Homocysteine and the brain in midadult life: evidence for an increased risk of leukoaraiosis in men. *Arch Neurol.* 2004 Sep;61(9):1369-76. doi: 10.1001/archneur.61.9.1369. Erratum in: *Arch Neurol.* 2005 Apr;62(4):691. PMID: 15364682.
119. Bicikova M, Tallova J, Hill M, Krausova Z, Hampl R. Serum concentrations of some neuroactive steroids in women suffering from mixed anxiety-depressive disorder. *Neurochem Res* 2000;25:1623-7.
120. Bicikova M, Tallova J, Stanicka S, Hill M, Vondra K, Hampl R. Levels of testosterone, allopregnanolone and homocysteine in severe hypothyroidism. *Clin Chem Lab Med* 2002;40:1024-7.
121. Tallova J, Tomandl J, Bicikova M, Simickova M. Homocysteine in breast cyst fluid. *Eur J Clin Invest* 2001; 31:623-7.
122. Cellarier E, Durando X, Vasson MP, Farges MC, Demiden A, Maurizis JC, et al. Methionine dependency and cancer treatment. *Cancer Treat Rev* 2003;29:489-99.
123. Sharma P, Senthilkumar RD, Brahmachari V, Sundaramoorthy E, Mahajan A, Sharma A, et al. Mining literature for a comprehensive pathway analysis: a case study for retrieval of homocysteine related genes for genetic and epigenetic studies. *Lipids Health Dis* 2006;5:1.

124. Bisschops RH, van der Graaf Y, Mali WP, van der Grond J. Elevated levels of plasma homocysteine are associated with neurotoxicity. *Atherosclerosis* 2004;174:87–92.
125. McDonald JW, Johnston MV. Physiological and pathophysiological roles of excitatory amino acids during central nervous system development. *Brain Res Brain Res Rev* 1990;15:41–70.
126. Meldrum B, Garthwaite J. Excitatory amino acid neurotoxicity and neurodegenerative disease. *Trends Pharmacol Sci* 1990;11:379–87.
127. North WG, Fay MJ, Du J, Cleary M, Gallagher JD, McCann FV. Presence of functional NMDA receptors in a human neuroblastoma cell line. *Mol Chem Neuropathol* 1997;30:77–94.
128. Piani D, Spranger M, Frei K, Schaffner A, Fontana A. Macrophage-induced cytotoxicity of N-methyl-D-aspartate receptor positive neurons involves excitatory amino acids rather than reactive oxygen intermediates and cytokines. *Eur J Immunol* 1992;22:2429–36.
129. Bicikova M, Kriz L, Mohapl M, Burkonova D, Tallova J, Husek P. Amino thiols in human brain tumors. *Clin Chem Lab Med* 2006;44(8):978–982.
130. Škovierová H, Mahmood S, Blahovcová E, Hatok J, Lehotský J, Murín R. Effect of homocysteine on survival of human glial cells. *Physiol Res*. 2015;64(5):747-54
131. Škovierová H, Mahmood S, Blahovcová E, Hatok J, Lehotský J, Murín R. Effect of homocysteine on survival of human glial cells. *Physiol Res*. 2015;64(5):747-54.
132. Folbergrová J, Haugvicová R, Mares P. Attenuation of seizures induced by homocysteic acid in immature rats by metabotropic glutamate group II and group III receptor agonists. *Brain Res* 2001; 908: 120-129.
133. Lazarewicz JW, Ziembowicz A, Matyja E, Stafiej A, Zieminska E. Homocysteine-evoked ⁴⁵Ca release in the rabbit hippocampus is mediated by both NMDA and group I metabotropic glutamate receptors: in vivo microdialysis study. *Neurochem Res* 2003; 28: 259-269.
134. Ziemińska E, Stafiej A, Łazarewicz JW. Role of group I metabotropic glutamate receptors and NMDA receptors in homocysteine-evoked acute neurodegeneration of cultured cerebellar granule neurones. *Neurochem Int* 2003; 43: 481-492.
135. Streck EL, Vieira PS, Wannmacher CM, Dutra-Filho CS, Wajner M, Wyse AT. In vitro effect of homocysteine on some parameters of oxidative stress in rat hippocampus. *Metab Brain Dis* 2003; 18: 147-154.
136. Greenop KR, Miller M, Bailey HD, de Klerk NH, Attia J, Kellie SJ, Bower C, Armstrong BK, Milne E. Childhood folate, B6, B12, and food group intake and the risk of childhood brain tumors: results from an Australian case-control study. *Cancer Causes Control*. 2015 Jun;26(6):871-9.
137. Zgheib R, Battaglia-Hsu SF, Hergalant S, Quéré M, Alberto JM, Chéry C, Rouyer P, Gauchotte G, Guéant JL, Namour F. Folate can promote the methionine-dependent reprogramming of glioblastoma cells towards pluripotency. *Cell Death Dis*. 2019 Aug 8;10(8):596.

138. Grimm SA, Chamberlain MC. Anaplastic astrocytoma. *CNS Oncol.* 2016;5:145-57.
139. Wu LL, Wu JT. Hyperhomocysteinemia is a risk factor for cancer and a new potential tumor marker. *Clin Chim Acta* 2002;322:21-8.
140. Hasan T, Arora R, Bansal AK, Bhattacharya R, Sharma GS, Singh LR. Disturbed homocysteine metabolism is associated with cancer. *Exp Mol Med* 2019;51:21.
141. Keshteli AH, Baracos VE, Madsen KL. Hyperhomocysteinemia as a potential contributor of colorectal cancer development in inflammatory bowel diseases: a review. *World J Gastroenterol* 2015;21:1081-90.
142. Aleksic D, Djokic D, Golubicic I, Jakovljevic V, Djuric D. The importance of the blood levels of homocysteine, folic acid and vitamin B12 in children with malignant diseases. *JBUON* 2013;18:1019-25.
143. Gatt A, Makris A, Cladd H et al. Hyperhomocysteinemia in women with advanced breast cancer. *Int J Lab Hematol* 2007;29:421-5. Erratum in: *Int J Lab Hematol* 2008;30:87.
144. Santotoribio JD, Del Valle-Vazquez L, García-de la Torre A, Del Castillo-Otero D, Lopez-Saez JB, Sanchez Del Pino MJ. The diagnostic value of pleural fluid homocysteine in malignant pleural effusion. *PLoS One* 2019;14:e0222616.
145. Varela Almanza KM, Puebla-Pérez AM, Delgado-Saucedo JI et al. Increased homocysteine plasma levels in breast cancer patients of a Mexican population. *Exp Oncol* 2018;40:114-8.
146. Fanapour PC, Yug B, Kochar MS. Hyperhomocysteinemia: an additional cardiovascular risk factor. *WMJ* 1999;98:51-4.
147. Mahalle N, Kulkarni MV, Garg MK, Naik SS. Vitamin B12 deficiency and hyperhomocysteinemia as correlates of cardiovascular risk factors in Indian subjects with coronary artery disease. *J Cardiol* 2013;61:289-94.
148. Molina-López J, Molina JM, Chiroso LJ, Florea DI, Sáez L, Planells E. Effect of folic acid supplementation on homocysteine concentration and association with training in handball players. *J Int Soc Sports Nutr* 2013;10:10.
149. Djuric D, Jakovljevic V, Zivkovic V, Srejovic I. Homocysteine and homocysteine-related compounds: an overview of the roles in the pathology of the cardiovascular and nervous systems. *Can J Physiol Pharmacol* 2018;96:991-1003.
150. Duthie SJ. Folate and cancer: how DNA damage, repair and methylation impact on colon carcinogenesis. *J Inherit Metab Dis* 2011;34:101-9.
151. Zhang D, Wen X, Wu W, Guo Y, Cui W. Elevated homocysteine level and folate deficiency associated with increased overall risk of carcinogenesis: meta-analysis of 83 case-control studies involving 35,758 individuals. *PLoS One* 2015;10:e0123423.
152. Crider KS, Yang TP, Berry RJ, Bailey LB. Folate and DNA methylation: a review of molecular mechanisms and the evidence for folate's role. *Adv Nutr* 2012;3:21-38.

153. Ehrlich M. DNA hypomethylation, cancer, the immunodeficiency, centromeric region instability, facial anomalies syndrome and chromosomal rearrangements. *J Nutr* 2002;132:2424S-29S.
154. Phelip JM, Ducros V, Faucheron JL, Flourie B, Roblin X. Association of hyperhomocysteinemia and folate deficiency with colon tumors in patients with inflammatory bowel disease. *Inflamm Bowel Dis* 2008;14:242-8.
155. Arendt JF, Farkas DK, Pedersen L, Nexø E, Sørensen HT. Elevated plasma vitamin B12 levels and cancer prognosis: A population-based cohort study. *Cancer Epidemiol* 2016;40:158-65.
156. Oh HK, Lee JY, Eo WK et al. Elevated Serum Vitamin B(12) Levels as a Prognostic Factor for Survival Time in Metastatic Cancer Patients: A Retrospective Study. *Nutr Cancer* 2018;70:37-44
157. Arendt JF, Nexø E. Unexpected high plasma cobalamin: proposal for a diagnostic strategy. *Clin Chem Lab Med* 2013;51:489-96.
158. Arendt JF, Pedersen L, Nexø E, Sørensen HT. Elevated plasma vitamin B12 levels as a marker for cancer: a population-based cohort study. *J Natl Cancer Inst* 2013;105:1799-805.
159. Shipton MJ, Thachil J. Vitamin B12 deficiency - A 21st century perspective. *Clin Med (Lond)* 2015;15:145-50.
160. Buamah PK, James OF, Skillen AW, Harris AL. Serum vitamin B12 levels in patients with primary hepatocellular carcinoma during treatment with CB3717. *J Surg Oncol* 1987;34:100-03.
161. Cui LH, Quan ZY, Piao JM et al. Plasma Folate and Vitamin B12 Levels in Patients with Hepatocellular Carcinoma. *Int J Mol Sci* 2016;17. pii: E1032.
162. Areekul S, Hathirat P, Churdchu K. Folic acid, vitamin B12 and vitamin B12 binding proteins in patients with neuroblastoma. *Southeast Asian J Trop Med Public Health* 1986;17:184-8.
163. Volkov I. The master key effect of vitamin B12 in treatment of malignancy-a potential therapy? *Med Hypotheses* 2008;70:324-8.

8. Прилог

8.1 КЉУЧНА ДОКУМЕНТАЦИЈСКА ИНФОРМАТИКА

УНИВЕРЗИТЕТ У КРАГУЈЕВЦУ
ФАКУЛТЕТ МЕДИЦИНСКИХ НАУКА У КРАГУЈЕВЦУ

Редни број - РБ:

Идентификациони број - ИБР:

Тип документације - ТД: Монографска публикација

Тип записа - ТЗ: Текстуални штампани материјал

Врста рада - ВР: Докторска дисертација

Аутор - АУ: Живанка Ђуровић

Ментор/коментор - МН: Проф. др Владимир Живковић

Наслов рада - НР: Прогностички значај вредности хомоцистеина, фолне киселине и витамина В12 у крви оболелих од малигнух тумора мозга

Језик публикације - ЈП: српски/ћирилица

Језик извода - ЈИ: српски/енглески

Земља публикавања - ЗП: Србија

Уже географско подручје - УГП: Централна Србија

Година - ГО: 2021.

Издавач - ИЗ: Ауторски репринт

Место и адреса - МС: 34000 Крагујевац, Светозара Марковића 69

Физичи опис рада - ФО: 87 страна, 2 слике, 32 табеле, 45 графика

Научна област - НО: Медицина

Научна дисциплина - ДИ: Експериментална и примењена физиологија са спортском медицином

Предметна одредница / кључне речи - ПО: малигни тумори мозга, хомоцистеин, фолна киселина, витамин В12

УДК:

Чува се - ЧУ: У библиотеци Факултета медицинских наука Универзитета у Крагујевцу

Важна напомена - МН:

Извод:

ИД

Последњих година се све више указује на могуће ефекте хомоцистеина и једињења укључених у његов метаболизам у карциномима нервног ткива. У том смислу, може се уочити да је ефекат хомоцистеина, фолне киселине и витамина В12 на формирање, развој и исход лечења код пацијената са карциномима мозга веома интригантан питање, чији одговор захтева додатно експериментално и клиничко истраживање. У литератури нема довољно података о учесталости повишених нивоа хомоцистеина у крви, као ни о поремећајима фолне киселине и витамина В12 код малигнух тумора мозга.

Генерални циљ ове студије је био да утврди прогностички значај вредности хомоцистеина, фолне киселине и витамина В12 у крви код пацијената адултне популације са малигнух туморима мозга.

Студијом је било обухваћено 100 испитаника оба пола који су у периоду од 24 месеца били праћени и хируршки лечени од малигнух и бенигнух неурохируршких патоанатомских супстрата на Неурохируршкој клиници Клиничког центра Србије. Месец дана, три месеца и шест месеци након операције код испитаника и са малигнух и бенигнух тумором сакупљани су узорци крви ради одређивања концентрације следећих параметара: укупни хомоцистеин, витамин В12 и фолна киселина; рутинске биохемијске анализе (крвна слика, липидни профил, хепатограм, уреа и креатинин); маркера инфламације (С-реактивни протеин, фибриноген, прокалцитонин).

Концентрација хомоцистеина била је значајно већа код пацијената код којих је болест унапредовала у поређењу са пацијентима код којих болест није унапредовала, чак и шест месеци након хируршког одстрањивања тумора, али остајући у физиолошким границама. Ово потенцијално значи да се мерење вредности хомоцистеина може евентуално размотрити као маркер прогресије малигнух обољења мозга. Потребна су даља и комплекснија истраживања на већем броју испитаника како би се сви претходно изнети закључци потврдили и тиме повећала релевантност и клиничка примењивост наших резултата.

Датум прихватања теме од стране ННВ:
ДП

27.03.2019.

Датум одбране:
ДО

Чланови комисије:
КО

1. Проф. др Владимир Јаковљевић, редовни професор Факултета медицинских наука Универзитета у Крагујевцу за ужу научну област Физиологија, председник;
2. Доц. др Војин Ковачевић, доцент Факултета медицинских наука Универзитета у Крагујевцу за ужу научну област Хирургија, члан;
3. Проф. др Тихомир Илић, редовни професор Медицинског факултета Војномедицинске академије Универзитета одбране у Београду за ужу научну област Неурологија, члан.

8.2. KEY WORDS DOCUMENTATION

**UNIVERSITY OF KRAGUJEVAC
FACULTY OF MEDICAL SCIENCES KRAGUJEVAC**

Accession number - ANO:

Identification number - INO:

Documentation type - DT: Monographic publication

Type of record - TR: Printed textual material

Contents code - CC: PhD Thesis

Author - AU: Zivanka Djurovic

Menthor/co-mentor - MN: Assoc. prof. Vladimir Zivkovic

Title - TI: Prognostic significance of homocysteine, folic acid and vitamin B12 in the blood of patients with malignant brain tumors

Language of text - LT: Serbian (cyrilic)

Language of abstract: Serbian/English

Country of publication - CP: Republic of Serbia

Locality of publication - LP: Central Serbia

Publication year - PY: 2021.

Publisher - PU: Author`s reprint

Publication place - PP: Faculty of Medical Sciences, University of Kragujevac, Street Svetozara Markovica 69, 34000 Kragujevac

Physical description - PD: 87 pages, 2 images, 32 tables, 45 graphs

Scientific field - SF: Medicine

Scientific discipline - SD: Experimental and applied physiology with sports medicine

Subject/key words - SKW: malignant brain tumors, homocysteine, folic acid, vitamin B12

UDC:

Holding data: Library of Faculty of Medical Sciences, University of Kragujevac, Republic of Serbia

Note - N:

Abstract:
AB

In the recent years, the possible effects of homocysteine and compounds involved in its metabolism in nervous tissue carcinomas have been increasingly pointed out. In that sense, it can be noticed that the effect of homocysteine, folic acid and vitamin B12 on the formation, development and outcome of treatment in patients with brain cancer is a very intriguing question, the answer to which requires additional experimental and clinical research. There are insufficient data in the literature on the frequency of elevated levels of homocysteine in the blood, as well as on disorders of folic acid and vitamin B12 in malignant brain tumors.

The overall aim of this study was to determine the prognostic significance of homocysteine, folic acid and vitamin B12 levels in the blood of adult patients with malignant brain tumors.

The study included 100 subjects of both genders who were followed and surgically treated for malignant and benign neurosurgical pathoanatomical substrates at the Neurosurgical Clinic of the Clinical Center of Serbia for a period of 24 months. One month, three months, and six months after surgery, blood samples were collected from subjects with both malignant and benign tumors to determine the concentration of the following parameters: total homocysteine, vitamin B12, and folic acid; routine biochemical analyzes (blood count, lipid profile, hepatogram, urea and creatinine); markers of inflammation (C-reactive protein, fibrinogen, procalcitonin).

Homocysteine concentrations were significantly higher in patients in whom the disease progressed compared to patients in whom the disease did not progress, even six months after surgical removal of the tumor, but remaining within physiological limits. This potentially means that measuring homocysteine levels may possibly be considered as a marker of the progression of malignant brain diseases. Further and more complex research are needed on a larger number of respondents in order to confirm all the previously presented conclusions and thus increase the relevance and clinical applicability of our results.

Accepted by the Scientific Board on:
ASB

27.03.2019.

Defended on:
DE

Thesis defended board
(Degree/name/surname/title/faculty)
DB

1. Prof. dr Vladimir Jakovljevic, Full professor at the Faculty of Medical Sciences, University of Kragujevac, Physiology, president;
2. Prof. dr Vojin Kovacevic, Assistant professor at the Faculty of Medical Sciences, University of Kragujevac, Surgery, member;
3. Prof. dr Tihomir Ilic, Full professor at the Medical faculty of the Military Medical Academy, University of Defense in Belgrade, Neurology, member.

БИОГРАФИЈА

1. Лични подаци

Име и презиме: Живанка Ђуровић

Датум и место рођења: 11.04.1963. године, Београд, Република Србија

Адреса: Шпанских бораца 54 , 11070 Нови Београд

Телефон: 063/341345

2. Образовање

- Средња медицинска школа Београд

- Висока медицинска школа струковних студија у Земуну

- Факултет за менаџмент универзитета „Браћа Карић” Београд

- Мастер из Јавног здравља - Медицински факултет у Београду

3. Познавање страних језика

- Енглески (виши ниво)

Радно искуство

- 1983. година - Клиника за ортопедску хирургију и трауматологију КЦ Србије - одељење септичне хирургије.

- 1987. година - операциони блок Ургентног центра КЦ Србије.

- 1993. година - поликлинничко дијагностичка служба Клинике за ортопедску хирургију и трауматологију КЦ Србије.

- 2008. година - едукатор здравствене неге Клинике за ортопедску хирургију и трауматологију КЦ Србије.

- 2013. године до данас - начелник службе за медицинску администрацију и координацију и акредитацију програма стручних усавршавања клинике за ортопедску хирургију и трауматологију КЦ Србије

БИБЛИОГРАФИЈА

1. **Djurovic Z**, Jovanovic V, Obrenovic R, Djurovic B, Soldatovic I, Vranic A, Jakovljevic V, Djuric D, Zivkovic V. The importance of the blood levels of homocysteine, folate and vitamin B12 in patients with primary malignant brain tumors. J BUON. 2020 Nov-Dec;25(6): 2600-2607.
2. **Djurovic Z**, Mutavdzin S, Drobnjakovic M, Djurovic M, Cvrkota I, Jovanovic V. Relationship between malignant brain tumors and values of homocysteine, folic acid and vitamin B12. Ser J Exp Clin Res 2017; 1-1.
3. Vranes M, Antonijevic A, **Djurovic Z**, Savic M. Plasma exchange in the treatment of relapsing multiple sclerosis: case report. Ser J Exp Clin Res. Doi:10.2478/sjecr-2021-0054.

ИЗЈАВА АУТОРА О ОРИГИНАЛНОСТИ ДОКТОРСКЕ ДИСЕРТАЦИЈЕ

Ја, Живанка Ђуровић, изјављујем да докторска дисертација под насловом:

Прогностички значај вредности хомоцистеина, фолне киселине и
витамина В12 у крви оболелих од малигнух тумора мозга

која је одбрањена на Факултету медицинских наука
Универзитета у Крагујевцу представља *оригинално ауторско дело* настало као резултат *сопственог истраживачког рада*.

Овом Изјавом такође потврђујем:

- да сам *једини аутор* наведене докторске дисертације,
- да у наведеној докторској дисертацији *нисам извршио/ла повреду* ауторског нити другог права интелектуалне својине других лица,
- да умножени примерак докторске дисертације у штампаној и електронској форми у чијем се прилогу налази ова Изјава садржи докторску дисертацију истоветну одбрањеној докторској дисертацији.

У Крагујевцу, 4.2.2022. године,

Живанка Ђуровић

потпис аутора

ИЗЈАВА АУТОРА О ИСКОРИШЋАВАЊУ ДОКТОРСКЕ ДИСЕРТАЦИЈЕ

Ја, Живанка Ђуровић,

дозвољавам

не дозвољавам

Универзитетској библиотеци у Крагујевцу да начини два трајна умножена примерка у електронској форми докторске дисертације под насловом:

Прогностички значај вредности хомоцистеина, фолне киселине и
витамина В12 у крви оболелих од малигних тумора мозга

која је одбрањена на Факултету медицинских наука

Универзитета у Крагујевцу, и то у целини, као и да по један примерак тако умножене докторске дисертације учини трајно доступним јавности путем дигиталног репозиторијума Универзитета у Крагујевцу и централног репозиторијума надлежног министарства, тако да припадници јавности могу начинити трајне умножене примерке у електронској форми наведене докторске дисертације путем *преузимања*.

Овом Изјавом такође

дозвољавам

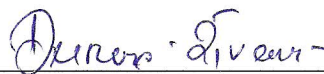
не дозвољавам¹

¹ Уколико аутор изабере да не дозволи припадницима јавности да тако доступну докторску дисертацију користе под условима утврђеним једном од *Creative Commons* лиценци, то не искључује право припадника јавности да наведену докторску дисертацију користе у складу са одредбама Закона о ауторском и сродним правима.

припадницима јавности да тако доступну докторску дисертацију користе под условима утврђеним једном од следећих *Creative Commons* лиценци:

- 1) Ауторство
- 2) Ауторство - делити под истим условима
- 3) Ауторство - без прерада
- 4) Ауторство - некомерцијално
- 5) Ауторство - некомерцијално - делити под истим условима
- 6) Ауторство - некомерцијално - без прерада²

У Крагујевцу _____, 4.2.2022. године,



потпис аутора

² Молимо ауторе који су изабрали да дозволе припадницима јавности да тако доступну докторску дисертацију користе под условима утврђеним једном од *Creative Commons* лиценци да заокруже једну од понуђених лиценци. Детаљан садржај наведених лиценци доступан је на: <http://creativecommons.org.rs/>