

**NAU NOM VE U MEDICINSKOG FAKULTETA
UNIVERZITETA U BEOGRADU**

Odlukom Nau nog ve a Medicinskog fakulteta u Beogradu od 07.09.2017. godine za ocenu doktorske disertacije pod nazivom „**Ispitivanje antioksidativnog statusa mleka majki prevremeno ro ene dece**“ kandidatkinje mr. sci. dr Vesne Marinkovi , specijaliste pedijatrije i subspecijaliste neonatologije, odre ena je komisija u sastavu:

1. Prof. dr Ljiljana Š epanovi , profesor Medicinskog fakulteta u Beogradu
2. Doc. dr Sonja Misirli Den i , docent Medicinskog fakulteta u Beogradu
3. Dr Snežana Spasi , dipl. hem., viši nau ni saradnik, Institut za hemiju, tehnologiju i metalurgiju-Centar za hemiju, Beograd

Mentor za izradu doktorske disertacije je Prof. dr Miloš Ješi .

Nakon detaljnog pregledanja priložene dokumentacije, konsultacija sa mentorom i kandidatkinjom, a prema kriterijumima za ocenu doktorske disertacije, lanovi komisije Nau nom ve u Medicinskog fakulteta u Beogradu jednoglasno podnose slede i

IZVEŠTAJ

A) Prikaz sadržaja doktorske disertacije

Doktorska disertacija dr Vesne Marinkovi napisana je na 95 stranica i podeljena je na slede a poglavlja: uvod, ciljevi rada, materijal i metode, rezultati, diskusija, zaklju ak i literatura. U disertaciji se nalazi 51 tabela, 5 grafikona i 1 slika. Ova doktorska disertacija sadrži tako e i sažetak na srpskom i engleskom jeziku, biografiju kandidata, podatke o komisiji i spisak koriš enih skra enica.

U **uvodu** je ukazano da su prevremeno ro ena deca posebno izložena oksidativnom stresu zbog smanjene antioksidativne zaštite uz izloženost visokim koncentracijama kiseonika, vrlo esto i infekciji, fototerapiji i intravenskoj primeni lipida u okviru parenteralne ishrane. Naglašeno je da humano mleko (HM) predstavlja složeni biološki fluid koji ima antioksidativna svojstva i važnu ulogu u prevenciji oksidativnog stresa. Navedeni su enzimski i neenzimski antioksidansi u HM i objašnjen je zna aj njihove uloge u antioksidativnoj zaštiti.Tako e su analizirani na ini skladištenja HM kao i osnovne nutritive i antioksidativne karakteristike adaptirane mle ne formule za ishranu prevremeno ro ene dece, kao i HM uz dodatak oboga iva a za ishranu prevremeno ro ene dece.

Ciljevi istraživanja su precizno definisani. Ima ih ukupno 7. Obuhvataju određivanje ukupnog antioksidativnog kapaciteta (UAK) HM majki prevremeno rođene dece primenom različitih neenzimskih i enzimskih metoda tokom laktacije (colostrum, prelazno i zrelo mleko). Dodatno, cilj ove disertacije je bio da ispita UAK zrelog HM koje je pohranjeno u frižideru 48 h, zamrzavano 7 i 30 dana, pasterizovano, zamrzavano pa pasterizovano, i uporediti ga sa UAK svežeg zrelog HM majki prevremeno rođene dece. Takođe je kao cilj postavljeno da se odredi UAK zamrznutog i obogaćenog HM majki prevremeno rođene dece, kao i UAK adaptirane mlečne formule za ishranu prevremeno rođene dece i uporediti se sa UAK svežeg zrelog HM. Ova teza je kao cilj postavila da odredi optimalnu metodu pohranjivanja i/ili obrade uzoraka HM majki prevremeno rođene dece u pogledu očuvanja UAK kao i da odredi vrstu mlečne ishrane (sveže zrelo, obogaćeno ili adaptirano mleko na formulu za ishranu prevremeno rođene deteta) koja obezbeđuje najbolju antioksidativnu zaštitu.

U poglavlju **materijal i metode** je precizirano da se radi o kohortnoj studiji koja je urađena u saradnji Instituta za neonatologiju u Beogradu, Hemijskog fakulteta Univerziteta u Beogradu i Instituta za hemiju, tehnologiju i metalurgiju, Centra za hemiju. Studija je obuhvatila 30 majki prevremeno rođene dece (porođaj pre 37. gestacijske nedelje) kod kojih je uspostavljena laktacija, prema redosledu prijema u Institut za neonatologiju u Beogradu. Određivanje UAK je obavljeno nenenzimskim metodama (spektrofotometrijskim, elektrohemijskim i fluorimetrijskim, spektrometrijskim). Aktivnosti superoksid dismutaze (SOD), glutation-peroksidaze (GSH-Px), glutation reduktaze (GR) i katalaze su posebno određene (korišćenjem spektrofotometrijskih metoda) kao enzimski pokazatelji antioksidativnog statusa. U svim uzorcima HM je izmeren pH i određena koncentracija vitamina C nenezymskom metodom. Određivanje UAK svežeg HM majki prevremeno rođene dece je obavljeno tokom prva 3 dana (colostrum), zatim od 5-14. dana (prelazno mleko) i nakon 21. dana (zrelo mleko). Uzorak HM dobijen nakon 21. dana od porođaja (sveže zrelo HM) je korišćen za upoređivanje sa HM izloženim različitim postupcima skladištenja i/ili obrade (skladištenje u frižideru, zamrzavanje, pasterizacija, zamrzavanje i pasterizacija). Analiziran je i upoređen UAK svežeg zrelog HM i HM u koji je dodat obogaćiva. Takođe je upoređen UAK svežeg zrelog HM sa adaptiranim mlekom formулом za ishranu prevremeno rođene dece, kao i obogaćenog HM sa adaptiranim mlekom formулом.

U poglavlju **rezultati** detaljno su opisani i jasno predstavljeni svi dobijeni rezultati. Katalazna aktivnost nije se mogla odrediti ni u jednom od analiziranih uzoraka.

Diskusija je napisana jasno i pregledno, uz prikaz podataka drugih sličnih istraživanja sa uporednim pregledom dobijenih rezultata ove doktorske disertacije.

U poglavlju **zaključak** kandidatkinja je iz svojih rezultata izvela jasne i nedvosmislenе zaključke, koji su u potpunosti odgovorili na postavljene ciljeve istraživanja.

Korišćena **literatura** sadrži spisak od 135 referenci.

B) Kratak opis postignutih rezultata

Ispitivanje UAK HM tokom laktacije (colostrum, prelazno i zrelo mleko) neenzimskim metodama primenom metode cikli ne voltametrije (CV), metodom određivanja kapaciteta apsorbance kiseoni nog radikala (ORAC) između u kolostruma i zrelog mleka je pokazalo visoko statistički značajnu razliku, UAK je značajno veće u kolostrumu ($p<0,001$). Koncentracija vitamina C je visoko statistički značajno veće u kolostrumu u odnosu na uzorke prelaznog mleka ($p<0,001$). Aktivnost SOD i GR je visoko statistički značajno veće u kolostrumu u odnosu na prelazno i zrelo mleko ($p<0,001$). Ispitivanje kolostruma i svežeg zrelog HM elektron paramagnetskom rezonantnom (EPR) spektroskopijom je pokazalo značajnu sposobnost hvatanja OH radikala u uzorku kolostruma. EPR signal intenziteti su u ispitivanim uzorcima mleka bili gotovo trostruko manji u odnosu na kontrolni sistem Fentonove reakcije.

Sve spektrofotometrijske metode nakon pohranjivanja mleka u frižideru na $+4^{\circ}\text{C}$, pokazale su značajno veće UAK u uzorku svežeg zrelog HM u odnosu na mleko pohranjeno u frižideru tokom 48 h, kao i koncentraciju vitamina C ($p<0,001$), osim inhibicije lipidne peroksidacije (ILP). Od primenjenih elektrohemihetskih metoda, UAK određen u diferencijalnom pulsnom voltametriju (DPV) bio je značajno manji u uzorku pohranjenom u frižideru 48 h u odnosu na sveže zrelo HM ($p<0,01$). Rezultati fluorimetrijskog ispitivanja, ORAC metodom su imali veću vrednost u uzorku zrelog HM pohranjenog u frižideru ($p=0,002$). Aktivnosti SOD, GSH-Px su bile značajno više u uzorku svežeg mleka ($p<0,001$) u odnosu na zrelo HM pohranjeno u frižideru 48 h. Aktivnost GR nije se statistički značajno razlikovala u ovim uzorcima.

Zamrzavanje HM je imalo uticaj na njegove antioksidativne karakteristike.

Primenom spektrofotometrijskih metoda, samo je metoda hvatanja slobodnih radikala (DPPH) u svežem zrelem HM u odnosu na zrelo zamrznuto sedam i trideset dana pokazala značajni uticaj dužine zamrzavanja na smanjenje UAK ispitivanih uzoraka mleka ($p<0,001$). Primena elektrohemihetske metode DPV je pokazala značajno smanjenje UAK nakon sedam dana zamrzavanja ($p=0,046$), dok fluorimetrijska metoda ORAC nije registrovala uticaj zamrzavanja na UAK. Koncentracija vitamina C značajno se smanjuje nakon zamrzavanja u odnosu na uzorak svežeg HM, i statistički je značajno manja, nakon sedam i trideset dana zamrzavanja ($p<0,001$). U ispitivanim uzorcima mleka SOD ima najveću aktivnost u uzorku svežeg zrelog u odnosu na zamrznute uzorke HM sedam i trideset dana ($p<0,001$). Aktivnost GSH-Px se menja nakon procesa zamrzavanja i značajno je veća u zrelem svežem HM u odnosu na uzorak zrelog zamrznutog trideset dana ($p<0,001$). Aktivnost GSH-Px se nije značajno promenila nakon sedam dana zamrzavanja. Aktivnost GR je značajno veća u uzorku svežeg zrelog HM, u odnosu na uzorak zrelog HM koji je bio zamrznut tokom trideset dana ($p=0,041$).

Nakon pasteurizacije neenzimski UAK određen spektrofotometrijskom metodama, osim DPPH ($p=0,001$) nije se značajno promenio nakon pasteurizacije mleka. Elektrohemihetske i fluorimetrijske metode određivanja UAK nisu pokazale značajnu razliku između ispitivanih uzoraka mleka. Aktivnosti SOD ($p=0,001$) i GSH-Px, GR, kao i koncentracija vitamina C su značajno manje u pasteurizovanom zrelem HM, u odnosu na uzorke svežeg zrelog HM ($p<0,001$).

Nakon zamrzavanja i pasterizacije sve spektrofotometrijske metode su pokazale zna ajnu razliku UAK izme u zrelog svežeg HM i HM zamrznutog sedam dana pa pasterizovanog, osim metode ILP ($p=0,076$). Pore enjem UAK spektrofotometrijskim metodama hvatanja DPHH, metodom odre ivanja sadržaja ukupnih fenola Folin-Ciocalteovim reagensom i metodom baziranom na reakciji antioksidanasa sa Fe (III)-kompleksom (FRAP) pokazano je da zrelo sveže mleko ima visoko statisti ki zna ajno ve u vrednost UAK u odnosu na mleko zamrznuto sedam dana pa pasterizovano ($p<0,001$). Pore enjem srednjih vrednosti UAK izme u uzoraka svežeg zrelog HM i zrelog zamrznutog sedam dana, zatim pasterizovanog odre enih metodom CV ($p=0,021$) dobijena je statisti ki zna ajna razlika, UAK je zna ajno ve i u svežem zrelom HM. Rezultat dobijen diferencijalnom pulsnom voltametrijom (DPV) u uzorcima zrelog svežeg mleka i zrelog HM zamrznutog sedam dana, pa pasterizovanog ukazao je na statisti ki visoko zna ajnu vrednost u uzorku svežeg zrelog u odnosu na zrelo HM zamrznuto sedam dana pa pasterizovano ($p<0,001$). Zamrzavanje mleka tokom sedam dana, a zatim pasterizacija nije pokazala statisti ki zna ajnu razliku izme u ispitivanih uzoraka odre ivanjem UAK metodom ORAC. Koncentracija vitamina C zna ajno je ve a u uzorku svežeg zrelog mleka u odnosu na zamrznuto zrelo HM sedam dana zatim pasterizovano. Uporedno odre ivanjeenzimske aktivnosti SOD, GSH-Px, GR je pokazalo da je njihova aktivnost najve a u uzorku svežeg zrelog mleka i statisti ki je zna ajno manja u uzorcima zrelog HM zamrznutog sedam dana zatim pasterizovanog ($p<0,001$). Pore enjem UAK uzoraka zrelog svežeg HM i zrelog zamrznutog tokom trideset dana metodom DPPH ($p=0,001$) i metodom odre ivanje sadržaja ukupnih fenola Folin-Ciocalteu reagensom ($p=0,034$) je pokazano da sveže zrelo HM ima statisti ki zna ajno ve u vrednost u odnosu na zrelo HM zamrznuto trideset dana pa zatim pasterizovano. Elektrohemiske i fluorimetrijske metode nisu pokazale zna ajnu promenu UAK izme u uzoraka svežeg zrelog HM i zrelog HM zamrznutog trideset dana zatim pasterizovanog. Koncentracija vitamina C u uzorcima svežeg zrelog HM se smanjuje nakon zamrzavanja trideset dana zatim pasterizacije i statisti ki je visoko zna ajno ve a u uzoraku svežeg zrelog HM ($p<0,001$).

Pore enjem UAK zrelog oboga enog HM koje je prethodno bilo zamrznuto do 6 meseci, u odnosu na uzorak svežeg zrelog HM, primenom spektrofotometrijskih i fluorimetrijskih metoda HM pokazano je da je UAK visoko statisti ki zna ajno ve i u uzorcima oboga enog HM ($p<0,001$). Odre ivanje UAK uzoraka svežeg HM u odnosu na zrelo oboga eno HM elektrohemiskom metodom ORAC nije pokazalo statisti ki zna ajnu razliku. Uporedno odre ivanje aktivnosti enzima antioksidativne zaštite SOD, GSH-Px, GR je pokazalo da je njihova aktivnost najve a u uzorcima oboga enog HM i statisti ki je zna ajno manja u svežem zrelom HM ($p<0,001$).

Upore ivanjem UAK zrelog oboga enog mleka u odnosu na adaptiranu mle nu formulu primenom spektrofotometrijskih i fluorimetrijskih metoda pokazana je statisti ki visoko zna ajno ve a vrednost UAK u oboga enom HM, u odnosu na adaptiranu mle nu formulu ($p<0,001$).

Rezultat odre ivanja aktivnosti antioksidativnih enzima u mleku SOD, GSH-Px, GR je pokazao statisti ki visoko zna ajno ve u vrednost u zrelom oboga enom HM, u onosu na adaptiranu mle nu formulu.

Koncentracija vitamina C je bila statisti ki zna ajno ve a u svežem zrelog HM u odnosu na uzorke oboga enog HM ($p<0,001$).

Pore enjem UAK zrelog svežeg HM u odnosu na adaptiranu mle nu formulu primenom spektrofotometrijskih i elektrohemijskih metoda pokazano je da uzorak svežeg zrelog HM ima statisti ki zna ajno ve u vrednost UAK, u odnosu na adaptiranu mle nu formulu ($p<0,001$). Tako e, pore enjem srednjih vrednosti UAK fluorimetrijskom metodom u uzorcima svežeg zrelog HM i adaptirane mle ne formule dobijena je statisti ki zna ajna razlika, UAK je zna ajno ve i u uzorku svežeg zrelog HM ($p=0,035$).

Ispitivanje aktivnosti enzima antioksidativne zaštite SOD, GSH-Px, GR, kao i koli ine vitamina C u svežem zrelog HM je pokazalo statisti ki visoko zna ajno ve u vrednost u uzorku svežeg zrelog HM u odnosu na adaptiranu mle nu formulu ($p<0,001$).

C)Uporedna analiza doktorske disertacije sa rezultatima iz literature

Još uvek nemamo saznanja o svim antioksidansima koji su prisutni u maj inom mleku (Becker D, 2008.). Budu i da maj ino mleko sadrži brojne antioksidanse, teško je odrediti ulogu i funkciju svakog antioksidansa posebno. Odre ivanje UAK u tom smislu predstavlja precizan pokazatelj anitoksidativnih svojstava maj inog mleka. Pojam UAK još uvek nije precizno nau no definisan, iako je poznato da mu u velikoj meri doprinosi prisustvo antioksidativnih enzima (SOD, CAT, GSH-P_x, GR), vitamina C, E, beta karotena, glutationa, laktoperina, koenzima Q i drugih faktora (Auten RL i sar. 2009.) Neenzimske metode odre ivanja UAK se spektrofotometrijske, fluorimetrijske, elektrohemijiske i spektrometrijske. Primjenjene metode su pokazale razli itu osjetljivost u odre ivanju UAK, što ukazuje na potrebu standardizovanja odre ivanja UAK. Tokom laktacije dolazi do promena antioksidativnih karakteristika HM i u tom smislu najve i UAK registruju elektrohemijiske metode (DPV) i fluorimetrijske metode (ORAC) u kolostrumu (Ezaki S i sar., 2008). U ovoj studiji metoda ORAC je pokazala zna ajno ve i UAK u kolostrumu, u odnosu na uzorke svežeg zrelog HM, dok elektrohemijiska metoda DPV nije pokazala statisti ki zna ajnu razliku. U našoj studiji vrednost SOD je najniža u kolostrumu i tokom laktacije u prelaznom i zrelog mleku se pove ava. Sli an rezultat dobijen je i u studiji koja je imala sli an cilj ispitivanja (Kasapovi i sar. 2005.). Ispitivanje kolostruma i svežeg zrelog mleka EPR spektroskopijom je pokazalo zna ajnu sposobnost hvatanja OH radikala. Kolostrum je pokazao superiornost svoje antioksidativne aktivnosti u pore enju sa drugim vrstama mleka tokom laktacije, što je pokazala i studija (Xu i sar. 2007.). Pohranjivanje mleka na +4°C tokom 48 h uti e na antioksidativni status mleka. U ovoj studiji koncentracija vitamina C je zna ajno ve a u uzorku svežeg zrelog mleka u odnosu na pohranjeno zrelo mleko, što su registrovali i drugi istraživa i (Slutzah i sar. 2010.). Iako ve ina studija nije pokazala zna ajnu promenu aktivnosti enzima antioksidativne zaštite u mleku (Cloetens i sar. 2013.) nakon skladištenja u frižideru na +4°C tokom 48 h, tokom ove studije aktivnost SOD i GSH-Px su zna ajno više u uzorku svežeg mleka.

Zamrznuto zrelo HM majki prevremeno ro ene dece proporcionalno sa dužinom skladištenja pokazuje signifikantno smanjenje UAK u odnosu na uzorak svežeg zrelog mleka, što je u saglasnosti sa literaturnim podacima (Sari i sar. 2012.).

U sprovedenoj studiji primenom spektrofotometrijskih metoda, samo je DPPH metoda pokazala zna ajan uticaj dužine zamrzavanja na smanjenje UAK ispitivanih uzoraka mleka.

Preporu eni metod pasterizacije je „hladna pasterizacija“, zagrevanje mleka do temperature od 62,5 °C i održavanje te temperature tokom 30 minuta. Ova metoda predstavlja preporuku ve ine internacionalnih vodi a za termi ku obradu HM banaka mleka (Euoropean Milk Bank Association (EMB) and the Human milk Banking Association of North America (HMBANA), 2015.). Studije koje su ispitivale uticaj pasterizacije na UAK maj inog mleka, su pokazale da je UAK u zna ajno meri redukovani, kao i koncentracija glutationa i GSH-Px (Silvestre i sar. 2008.). Tokom ove studije nakon pasterizacije neenzimski UAK odre en spektrofotometrijskom metodama, osim DPPH nije se zna ajno promenio nakon pasterizacije mleka. Elektrohemiske i fluorimetrijske metode odre ivanja aktivnosti UAK nisu pokazale zna ajnu razliku izme u ispitivanih uzoraka mleka. Pasterizacija smanjuje aktivnost SOD i GSH-Px, GR i koncentraciju vitamina C.

Skladištenje HM u bankama mleka podrazumeva najpre zamrzavanje. Pre koriš enja HM se odmrzava i izlaže procesu „hladne pasterizacije“ na 62,5 °C tokom 30 min.. Navedeni postupci skladištenja imaju negativan uticaj na UAK i enzimsku aktivnost mleka (Peila i sar. 2016.). Pore enjem UAK spektrofotometrijskim metodama pokazano je da zrelo HM zamrznuto sedam dana pa pasterizovano, ima zna ajno manji UAK u odnosu na sveže zrelo HM. Elektrohemiski metod DPV u ispitivanju UAK, tako e pokazuje trend smanjenja. Zamrzavanje mleka tokom 7 dana, a zatim pasterizacija nije pokazala razliku izme u ispitivanih uzoraka odre ivanjem UAK metodom ORAC. Koncentracija vitamina C zna ajno je ve a u uzorku svežeg zrelog mleka u odnosu na zrelo zamrznuto sedam dana. Uporedno odre ivanje enzimske aktivnosti SOD, GSH-Px, GR je pokazalo da je njihova aktivnost najve a u uzorku svežeg zrelog mleka, a nakon zamrzavanja i pasterizacije se smanjuje. Pore enjem uzorka svežeg zrelog mleka i mleka zamrznutog tokom trideset dana primenom spektrofotometrijskih metoda razliku izme u ispitivanih uzoraka je pokazala metoda DPPH i odre ivanje sadržaja ukupnih fenola Folin-Ciocalteu reagensom. Elektrohemiske i fluorimetrijske metode (ORAC) nisu pokazale zna ajnu promenu UAK. Koncentracija vitamina C se zna ajno smanjuje sa dužinom zamrzavanja.

Uticaj multikomponentnog oboga iva a na zrelo HM i njegov uticaj na UAK i antioksidativna svojstva do sada nije dovoljno ispitani (Cloetens i sar., 2013.). Spektrofotometrijske, elektrohemiske, osim fluorimetrijske (ORAC) metode su pokazale ve i UAK oboga enog HM koje je prethodno bilo zamrznuto do 6 meseci u odnosu na uzorak svežeg zrelog HM. Odre ivanje enzima antioksidativne zaštite u uzorcima mleka SOD, GSH-Px, GR je pokazalo zna ajno više vrednosti u oboga enom zrelom HM u odnosu na sveže zrelo HM. Oboga eno zrelo zamrznuto HM majki prevremeno ro ene dece je bolji izbor za ishranu ove populacije dece u odnosu na njima namenjenu adaptiranu mle nu formulu i sveže zrelo HM, sa izuzetkom sadržaja vitamina C koji je najve i u svežem zrelom HM. Sve ovo sugerise da je za ishranu prevremeno ro enog deteta optimalno kada god je mogu e koristititi sveže oboga eno HM. Novije studije koje bi analizirale uticaj oboga ivanja na HM na

antioksidativna svojstva HM bi u velikoj meri doprineli poboljšanju strategije u ishrani prevremenog rođene dece (Rochow N i sar., 2013.).

Ishranom majčinim mlekom ostvaruje se bolja antioksidativna zaštita u odnosu na ishranu adaptiranim mlečnim formulama, što se objašnjava snažnijim antioksidativnim sistemom, većom aktivnošću u SOD i višim sadržajem redukcionih supstanci (slobodni tioli) (Friel i sar., 2002.). Majčino mleko ima sposobnost direktnog hvatanja radikala pomoći u tiol-grupi (Hioe i sar., 2010.). Upravo ova pojava ukazuje da majčino mleko ima mnogo veći antioksidativni potencijal u odnosu na adaptirane mlečne formule. Tokom ove studije ispitivanje UAK primenom spektrofotometrijskih, elektrohemihemih i fluorimetrijskih metoda je pokazalo višu aktivnost UAK u zrelog mleku u odnosu na adaptiranu formulu. Ispitivanje aktivnosti enzima u mleku SOD, GSH-Px, GR, kao i vitamina C je u ispitivanim uzorcima mleka je pokazalo znatno veću aktivnost u uzorku svežeg zrelog mleka u odnosu na adaptiranu formulu u skladu sa drugim studijama (Lugonja i sar., 2014, Aycicek i sar., 2006).

U adaptiranim mlečnim formulama dominantna je uloga neenzimskih komponenti UAK, vitamina A, C, E (Lugonja i sar., 2013.).

D) Objavljeni radovi koji su deo doktorske disertacije

1. Vesna Marinković, Milica Ranković-Janevski, Snežana Spasić, Aleksandra Nikolić-Kokić, Nikoleta Lugonja, Dijana Djurović, Srdjan Miletic, Miroslav M. Vrvić, and Ivan Spasojević. Antioxidative activity of colostrum and human milk: Effects of pasteurization and storage. *J Pediatr Gastroenterol Nutr.* 2016;62:901-6.
2. Simeon Minić, Miloš Ješić, Dijana Šurović, Srdjan Miletic, Nikoleta Lugonja, Vesna Marinković, Aleksandra Nikolić-Kokić, Snežana Spasić and Miroslav M. Vrvić; Redox properties of transitional milk from mothers of preterm infants; *Journal of Paediatrics and Child Health* 2017 (in Press); (DOI: 10.1111/jpc.13676).
3. N.M. Lugonja, D.M. Stanković, B. Milić, S.D. Spasić, V. Marinković, M.M. Vrvić; Electrochemical monitoring of the breast milk quality; *Food Chemistry* 240 (2018) 567–572.

3. Zaključak (obrazloženje naučnog doprinosa)

Doktorska disertacija dr Vesne Marinković „Ispitivanje antioksidativnog statusa mleka majčine prevremenog rođene dece“ dr Vesne Marinković predstavlja originalni naučni doprinos analizi antioksidativnih karakteristika majčinog mleka tokom laktacije (colostrum, prelazno, zrelo mleko), kao i uticaja različitih načina skladištenja i termičke obrade na antioksidativni kapacitet HM. Ova doktorska disertacija je prva u načinu prema svim principima dobrog, savremenog naučnog istraživanja. Istraživačka ideja je originalna, studija je dobro i precizno osmišljena, ciljevi su jasno definisani, a korišćena metodologija rada je savremena i raznovrsna. Rezultati su pregledno i sistematično prikazani i diskutovani, a iz njih su izvedeni odgovarajući zaključci. Ukupni antioksidativni kapacitet je određen u različitim uzorcima HM majčine prevremenog rođene dece. Dobijeni rezultati nedvosmisleno ukazuju da u pogledu

antioksidativnog potencijala kolostrum ima prednost u odnosu na zrelo mleko, kao i da nema idealnog na ina skladištenja mleka, tj. svi na ini skladištenja i termi ke obrade zrelog mleka umanjuju njegov antioksidativni kapacitet. Pore enje svežeg zrelog mleka majki prevremeno ro ene dece i adaptirane mle ne formule za ishranu prevremeno ro ene dece, pokazalo je da imaju razli ita antioksidativna svojstva uz odre enu prednost svežeg zrelog mleka. Zna ajan zaklju ak ove disertacije je da zrelo zamrznuto, a zatim oboga eno mleko majki prevremeno ro ene dece ima bolja antioksidativna svojstva od svežeg zrelog mleka, a posebno od adaptirane mle ne formule za prevremeno ro enu decu što opravdava i podržava koncept savremenih banki humanog mleka. Oboga ivanje mleka vitaminom C nakon postupaka termi ke obrade i/ili skladištenja je u skladu sa rezultatima ove studije opravdano, jer svi ovi postupci zna ajno smanjuju koncentraciju vitamina C u mleku. Potrebna su dodatna istraživanja sa ciljem izdvajanja najosetljivije metode za procenu antioksidativnog kapaciteta humanog mleka što bi omogu ilo standardizaciju u postupku njegovog odre ivanja i doprinelo preciznijim i boljim rezultatima i zaklju cima u ovoj oblasti.

Na osnovu svega navedenog, imaju i u vidu dosadašnji nau ni rad kandidata, komisija predlaže Nau nom ve u Medicinskog fakulteta Univerziteta u Beogradu da prihvati doktorsku disertaciju mr.sc. med.dr Vesne Marinkovi i odobri njenu javnu odbranu.

U Beogradu, 23.11.2017.

lanovi komisije:

Prof. dr Ljiljana Š epanovi

Mentor:

Prof. Dr Miloš Ješi

Doc. dr Sonja Misirli Den i

Dr Snežana Spasi , dipl. hem., viši nau ni saradnik
