

NAU NOM VE U MEDICINSKOG FAKULTETA
UNIVERZITETA U BEOGRDU

Na sednici Nau nog ve a Medicinskog fakulteta u Beogradu, održanoj dana 01.12.2016. godine, broj 5940/8, imenovana je komisija za ocenu završene doktorske disertacije pod naslovom:

„Povezanost nivoa leptina i adiponektina sa somatskim i metaboli kim parametrima diskordantnih blizanaca“

kandidata dr Svetlane Milenkovi , zaposlene u Klinici za ginekologiju i akušerstvo Klini kog centra Srbije u Beogradu, Mentor je Prof. dr Borisav Jankovi , Komentor je Prof. dr Ljiljana Mirkovi

Komisija za ocenu završene doktorske disertacije imenovana je u sastavu:

1. Prof. dr Darko Ple aš, profesor Medicinskog fakulteta u Beogradu
2. Prof. dr Silvija Saji , profesor Medicinskog fakulteta u Beogradu
3. Prof. dr Svjetlana Maglajli uki , profesor u penziji

Na osnovu analize priložene doktorske disertacije, komisija za ocenu završene doktorske disertacije jednoglasno podnosi Nau nom ve u Medicinskog fakulteta slede i

IZVEŠTAJ

A) Prikaz sadržaja doktorke disertacije

Doktorska disertacija dr Svetlane Milenkovi napisana je na ukupno 130 strana i podeljena je na slede a poglavlja: uvod, ciljevi rada, materijal i metode, rezultati, diskusija, zaklju ci i literatura. U disertaciji se nalazi ukupno 68 tabela, 28 grafikona i 6 slika. Doktorska disertacija sadrži sažetak na srpskom i engleskom jeziku, biografiju kandidata, podatke o komisiji i spisak skra enica koriš enih u tekstu.

U **uvodu** je definisan pojam fetalnog programiranja kod intrauterusnog zastoja u rastu (IUZR) i istaknut njegov zna aj u patogenezi hroni nih bolesti odraslih. Detaljno je izložen pretpostavljeni mehanizam nastanka fetalnog programiranja. Poseban akcenat je stavljen na povezanost disfunkcije masnog tkiva, metaboli kih poreme aja i fetalnog programiranja.

Tako e je prikazan opsežan osvrt na dosadašnja saznanja vezana za ulogu leptina i adiponektina u metabolizmu odraslih, adaptaciji na normalnu trudno u i patološka stanja u trudno i kao i njihov uticaj na fetalni rast.

Ciljevi rada su precizno definisani. Ciljevi istraživanja su bili da se utvrde nivoi adipokina kod blizanaca sa IUZR na ro enju i u tre em danu života i da se ispita njihov odnos sa somatskim i metaboli kim parametrima.

U poglavlju **materijal i metode** je navedeno da se radi o prospektivnoj trasferzalnoj studiji koja je sprovedena na Klinici za ginekologiju i akušerstvo Klini kog centra Srbije. Detaljno je opisan na in formiranja grupa blizanaca koje su ispitivane a radilo se o grupama diskordantnih i konkordantnih blizanaca. U istraživanje je uklju eno ukupno 78 parova blizanaca. Jasno su nazna eni kriterijumi za uklju ivanje i isklju ivanje iz istraživanja. Uzorci krvi su sakupljani iz pup anika i u tre em danu života i uvani na -20 do izvo enja RIA analiza. Ova studija odobrena je i od strane Eti kog komiteta Klinike za ginekologiju i akušerstvo, Eti kog komiteta Klini kog centra Srbije i Eti kog komiteta Medicinskog fakulteta, Univerziteta u Beogradu. Sve majke iji su blizanci bili uklju eni u istraživanje su detaljno informisane o ciljevima studije i dale su pisani pristanak pre uklju enja u studiju.

U poglavlju **rezultati** detaljno su opisani i jasno predstavljeni svi dobijeni rezultati tabelarno, grafi ki i tekstualno.

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

Zaklju ci sažeto prikazuju najvažnije nalaze koji su proistekli iz rezultata rada. Koriš ena **literatura** sadrži spisak od 247 referenci.

B) Kratak opis postignutih rezultata

Rezultati ove studije su pokazali da su nivoi leptina i leptina/PTM na ro enju i u tre em danu (d3) bili uporedivi izme u IUZR blizanaca i njihovih parova sa odgovaraju im rastom (appropriate for gestational age-AGA blizanci). Me utim kada su upore ivani blizanci ro eni posle 35. gestacione nedelje (GN) koncentracije leptina su bile zna ajno niže kod IUZR blizanaca u d3 ($p=0,011$). Nivoi leptina i L/PTM u d3 su bili zna ajno viši kod ve ih diskordantnih u odnosu na ve e konkordantne blizance ($p=0,001$ i $p=0,001$) kao i kod IUGR u odnosu na manje konkordantne blizance ($p=0,004$ i $p=0,001$ respektivno). Koncentracije

adiponektina i insulina izmerene na ro enju i u d3 kao i u podgrupi iznad 35 GN nisu se statisti ki zna ajno tazlikovale izme u IUZR i AGA blizanaca. Me utim adiponektin/PTM je bio viši kod IUZR blizanaca kako u odnosu na AGA blizance tako i u odnosu na manje konkordantne blizance u oba merenja ($p=0,002$ i $p=0,035$ respektivno unutar parova i $p=0,022$ i $p=0,002$ izme u parova).

U grupi blizanaca iznad 35GN nivo insulina je bio statisti ki zna ajno viši kod IUZR u odnosu na manjeg konkordantnog blizanca u d3 ($p=0,044$). Na ro enju su indeksi G/I i HOMA IR bili uporedivi izme u grupa dok je TG/HDL bio zna ajno viši kod IUZR u pore enju sa AGA ($p=0,002$) i manjim konkordantnim blizancima ($p=0,014$). U d3 IUZR blizanci su pokazali nešto niže vrednosti G/I u odnosu na svoje AGA blizance i signifikantno niže vrednopsti u u odnosu na manje konkordantne blizance ($p=0,031$). HOMA IR u d3 je bio uporediv izme u grupa. TG/HDL C u d3 je ostao viši kod IUZR u odnosu na AGA blizance ($p=0,008$). Kod IUZR blizanaca HOMA IR, G/I i TG/HDL nisu bili povezani sa nivoom bilo kog adipokina za razliku od ve ih konkordantnih blizanaca u d3 gde je leptin pozitivno korelirao sa HOMA IR i negativno sa G/I i TG/HDL (marginalno). Kod IUZR blizanaca adiponektin i insulin su pokazali pozitivnu povezanost ($p=0,04$) dok je kod manjih konkordantnih blizanaca ova povezanost inverzna ($p=0,032$).

Postojala je korelacija izme u leptina, ali ne i adiponektina ili insulina, i PTM ($p=0,033$), TD ($p=0,033$), i obima glave ($p=0,031$) kod IUZR blizanaca.

Kod IUZR blizanaca nivo TG je bio zna ajno viši ($p=0,003$) dok su nivoi TC ($p=0,029$), HDL C ($p=0,013$) i LDL C ($p=0,033$) bili zna ajno niži na ro enju. U tre em danu HDL C je bio signifikantno niži ($p=0,004$) a TG su bili viši ($p=0,011$) kod blizanaca sa restrikcijom rasta. U diiskordantnoj grupi promene u nivou lipida nisu bile povezane sa adipokinima. Suprotno od njih kod konkordantnih blizanaca na ro enju je insulin inverzno korelirao sa TC ($p=0,003$), HDL C ($p=0,03$) i TG ($p=0,001$) dok je adiponektin bio pozitivno povezan sa TG ($p=0,001$). U tre em danu jedino je zabeležena povezanost izme u leptina i HDL C kod ve eg konkordantnog blizanca ($p=0,003$).

Na ro enju nije bilo polne razlike u nivou leptina, adiponektina i insulina. Adiponektin i insulin su bili zna ajno viši kod muških blizanaca sa IUZR u d3 ($p=0,019$ i $p=0,02$).

C) Usporedna analiza doktorske disertacije sa rezultatima iz literature

Prema podacima iz dostupne literature nivoi leptina su niži kod terminske novorođenadi sa IUZR (Chiesa 2008, Bajoria 2007, Maveli 2015, Lee 2016, Martos Moreno 2009) mada ima i autora koji ne nalaze značajnu razliku u nivou leptina između IUZR i AGA novorođenadi (Mazaki Tovi 2009, Aydin 2015, Kyriakakou 2008). Kako je u većem broju istraživanja uključena novorođenad rođena u terminu pretpostavka je da se odnos između količine masnog tkiva i koncentracije leptina uspostavlja u kasnijoj gestaciji. Iz tih razloga je odvojeno testirana grupa blizanaca rođena posle navršene 35. gestacione nedelje i u ovoj grupi je nivo leptina bio niži kod blizanaca sa IUZR. Ovaj rezultat govori u prilog teoriji o fetalnom programiranju koja je pretpostavka da su promene nastale in utero permanentne i prisutne na rođenju.

Više vrednosti leptina kod diskordantnih u odnosu na konkordantne blizance, kao i viši odnos leptin/TM kod IUZR u odnosu na manje konkordantne blizance može da ukazuje na izvestan stepen adaptacije kod diskordantnih blizanaca ali i na postojanje relativne leptinske rezistencije u ranom neonatalnom uzrastu što potvrđuju i radovi drugih autora (Davidson 2006, Valuniene 2007). Pad nivoa leptina u prvim danima života registrovan je i u ostalim studijama kao što je i u prikazanom istraživanju (Valuniene 2007, Bellone 2005, Sivan 2003).

Korelacija između leptina i somatskih parametara je registrovana na rođenju i kod IUZR i kod AGA blizanaca što takođe nalazi većina autora (Zheng 2014, Nakano 2009, Martos Moreno 2009, Tung 2009) mada ima i onih koji negiraju ovu povezanost (Orbak 2001, Siahaniidou 2007). Kod IUZR blizanaca nivo leptina nije korelirao sa indirektnim pokazateljima količine masnog tkiva (BMI i PI), za razliku od konkordantnih blizanaca, što ukazuje na poremećen odnos masnog tkiva i leptina kod IUZR.

Kod odraslih je prisutna polna razlika u nivou leptina dok su u prezentovanom istraživanju kod dečaka bile nešto niže vrednosti leptina u svim ispitivanim grupama, ali bez statističke značajnosti. Pretpostavka je da bi na većem uzorku ova razlika imala statističku značajnost kao u radovima nekih istraživača (Briesiada 2014, Mellati 2010, Zheng 2014).

Suprotno leptinu, nivoi adiponektina i insulina na rođenju i u trećem danu bili su uporedivi kod IUZR blizanaca u odnosu na AGA blizance. Podaci iz dostupne literature, posebno vezano za adiponektin su malobrojni i inkonzistentni. Prema nekim objavljenim rezultatima nivoi adiponektina su niži kod IUZR novorođenadi (Mazaki Tovi 2009, Lee 2016, Visenetin

2014) i koreliraju sa somatskim parametrima (Mantzoros 2009, Saito 2012, Pardo 2004) dok drugi autori ne nalaze razliku u nivou adiponektina kod IUZR na ro enju (Bozzola 2010, Kyriakakou 2008, Martinez Cordero 2006) niti njegovu korelaciju sa somatskim parametrima (Inoue 2008, Pardo 2004, El Mazary 2015, Fonseca 2015). Kako je kod odraslih prisutna inverzna korelacija izme u koli ine masnog tkiva i koncentracije adiponektina u serumu izostajanje korelacije izme u adiponektina i somatskih parametara može ukazati da se ve na ro enju po inje uspostavlja negativan uticaj masnog tkiva na sekreciju adiponektina. Ovoj pretpostavci u prilog govore i rezultati ove studije koji su pokazali viši odnos adiponektin/TM kod IUZR blizanaca kako u odnosu na njihove AGA blizance tako i u odnosu na manje konkordantne blizance, što je verovatno posledica manjeg inhibitornog uticaja iz redukovanog masnog tkiva kod IUZR.

Na ro enju su indeksi insulinske senzitivnosti odnosno rezistencije kod IUZR bili nesignifikantno niži što je uporedivo sa nekim podacima iz literature (Bozzola 2010, Hou 2014, Street 2009) dok je u suprotnosti sa rezultatima drugih istraživanja (Beltrand 2008, Zhao 2010). U literaturi ima veoma malo podataka vezano za nivoe insulina i pokazatelje insulinske senzitivnosti u ranom neonatalnom uzrastu. Dok dva autora zakljuju da su novoro en ad sa IUZR senzitivnija na insulin od AGA novoro en adi u prvim danima života (Bazaes 2003, Mericq 2005)) tre i tvrdi upravo suprotno- da su IUZR neonatusi i ranom neonatalnom uzrastu ve rezistentni na insulin (Wang 2007). Rezultati prezentovane studije vezani za pokazatelje insulinske senzitivnosti/rezistencije u tre em danu (G/I, HOMA IR i TG/HDL C) ukazuju na postojanje ralativne insulinske rezistencije kod IUZR blizanaca. Kao što je veoma malo podataka prisutno u literaturi vezano za insulinsku senzitivnost kod IUZR novoro en adi tako je još manje autora prikazalo svoja istraživanja vezana za povezanost adipokina i insulinske senzitivnosti. U našoj studiji nije registrovana povezanost leptina i adiponektina sa insulinskom senzitivnoš u kod IUZR blizanaca što potvr uje mali broj studija koje su se bavile ovim pitanjem (Martos Moreno 2009, Basu 2009). Me utim kod konkordantnih blizanaca u tre em danu postojala je pozitivna povezanost koncentracije leptina sa HOMA IR i inverzna povezanost sa G/I i TG/HDL . Sli ne rezultate je objavila i nekolicina drugih autora (Zheng 2014, Luo 2013, Catalano 2009). Ovi rezultati sugerišu da bi leptin mogao igrati zna ajnu ulogu u regulaciji metabolizma u fetalnom i ranom neonatalnom uzrastu. Suprotno o ekivanjima adiponektin nije pokazao povezanost sa pokazateljima insulinske senzitivnosti ni kod diskordantnih ni kod konkordantnih blizanaca što tako e potvr uju i rezultati nekoliko studija (Basu 2009, Luo 2013) ali je registrovana pozitivna

povezanost sa insulinom kod manjih konkordantnih blizanaca kao i u jednoj studiji novijeg datuma (Zheng 2014). Me utim kod IUZR blizanaca povezanost adiponektina i insulina je inverzna što su tako e objavili i drugi malobrojni autori (Pinar 2008, Kotani 2004), mada ima i onih koji ne nalaze nikakvu vezu izme u nivoa insulina, adiponektina i odlika fetalnog rasta (Basu 2009, Martos Moreno 2009, Lindsay 2004). U svakom slu aju potrebna su dalja istraživanja na ovom polju koja bi dokazala povezanost nivoa adipokina, IUZR i kasnijih metaboli kih poreme aja u životu.

Prema rezultatima izložene studije može se videti da novoro en ad sa IUZR imaju poreme en lipidni status kako na ro enju tako i u tre em danu života. Visoke nivoe triglicerida na ro enju nalazi i ve ina ostalih autora (Hou 2014, Nayak 2013, Koklu 2006), dok su podaci vezani za ostale elemente lipidnog statusa šaroliki i govore u prilog smanjenog snabdevanja fetusa sa IUZR (Solis Paredes 2016), poreme ene funkcije lipoproteinskih receptora u placenti (Wadsack 2007), smanjene produkcije apolipoproteina u jetri (Pecks 2012) i hipoinsulinemije. Broj objavljenih radova koji su ispitivali lipidni status u ranom neonatalnom uzrastu je još manji i u jedinjoj studiji sa kojom smo mogli porediti naše rezultate je pokazano da su nivoi triglicerida, ukupnog holesterola i HDL holesterola viši kod SGA novoro en adi što upu uje na postojanje insulinske rezistencije u ranom neonatalnom uzrastu. Iako je u našoj studiji kod IUZR blizanaca i u tre em danu nivo triglicerida bio povišen, koncentracije HDL holesterola su bile zna ajno niže što može zna iti da novoro en ad sa fetalnom restrikcijom rasta mogu biti predisponirana kako za dislipidemiju tako i za ve i rizik od kardiovaskularnih bolesti u kasnijem životu.

Poreme en nivo lipida kod blizanaca sa IUZR nije bio povezan sa nivoom adipokina. Me utim povezanost adipokina i elemenata lipidnog statusa je registrovana kod konkordantnih blizanaca kako na ro enju tako i u ranom neonatalnom uzrastu (leptin- HDL C, adiponektin-trigliceridi) i delimi no je u saglasnosti sa krajnje oskudnim literaturnim podacima (Nelson 2007, Bansal 2006, Nakano 2009) što tako e ukazuje na potrebu za daljim istraživanjima u ovoj oblasti.

D) Objavljeni radovi koji ine deo doktorske disertacije

Svetlana Milenkovi , Borisav Jankovi , Ljiljana Mirkovi , Miljana Jovandari , Dušan Milenkovi , Biljana Otaševi . **Lipids and adipokines in cord blood and at 72h in discordant dichorionic twins.** *Fetal and Pediatric Pathology* (2016). doi:10.1080/15513815.2016.1242675

E) Zaključak (obrazloženje nau nog doprinosa)

Doktorska disertacija „Povezanost nivoa leptina i adiponektina sa somatskim i metaboli kim parametrima diskordantnih blizanaca“ dr Svetlane Milenkovi , kao prvi ovakav rad u našoj populaciji predstavlja originalni nau ni doprinos u razumevanju mehanizama fetalnog programiranja. Rezultati studije su pokazali da je kod novoro en adi sa fetalnom restrikcijom rasta nivo leptina niži i da je povezan sa somatskim parametrima. Tako e je kod novoro en adi sa IUZR izmenjen nivo lipida ve na ro enju. Ovo su dokazi koji govore u prilog teoriji o fetalnom programiranju. Povezanost izme u leptina, insulina i indeksa insulinske rezistencije kod konkordantnih blizanaca upu uje na zaključak da bi leptin mogao biti važan metaboli ki marker fetalnog i ranog neonatalnog rasta i razvoja. Mada u studiji nije dokazana povezanost adiponektina sa somatskim i metaboli kim parametrima kod blizanaca sa IUZR to ne isklju uje njegovu ulogu fetalnom rastu i metabolizmu što su potvrdili rezultati vezani za konkordantne blizance. Korelacija izme u leptina, adiponektina i insulina sa lipidnim statusom kod konkordantnih blizanaca ukazuje na potrebu za daljim istraživanjem u ovoj oblasti.

Rezultati ove studije su još jedan od dokaza koji govore u prilog teoriji o fetalnom programiranju apetita te zbog toga mogu imati i prakti ni zna aj. Hipoleptinemija kod dece sa IUZR dovodi do pove anog apetita, koji udružen sa ve om insulinskom senzitivnoš u u ranom uzrastu dovodi do hiperfagije, ubrzanog rasta, nakupljanja masti i razvoja centralnog tipa gojaznosti a kasnije i dijabetesa. Primena leptina u prvim godinama života mogla bi uticati na smanjivanje incidence gojaznosti i metaboli kog sindroma što je pokazano i u eksperimentalnim studijama.

Ova doktorska disertacija je urađena prema svim principima naučnog istraživanja. Ciljevi su bili precizno definisani, naučni pristup je bio originalan i pažljivo izabran, a metodologija rada je bila savremena. Rezultati su pregledno i sistematično prikazani i diskutovani, a iz njih su izvedeni odgovarajući zaključci.

Na osnovu svega navedenog, imajući u vidu dosadašnji naučni rad kandidata, komisija predlaže Naučnom vešću u Medicinskom fakultetu Univerziteta u Beogradu da prihvati doktorsku disertaciju dr Svetlane Milenković i odobri njenu javnu odbranu radi sticanja akademske titule doktora medicinskih nauka.

U Beogradu, 20.12.2016. god..

Članovi Komisije:

Prof. dr Darko Plešić

Prof. dr Silvija Sajić

Prof. dr Svjetlana Maglajlić uki

Mentor:

Prof. dr Borisav Janković

Komentor

Prof. dr Ljiljana Mirković
