

**NASTAVNO-NAUČNOM VEĆU
UNIVERZITETA U BEOGRADU - FARMACEUTSKOG FAKULTETA**

Komisiji za posle diplomsku nastavu – doktorske studije

Na sednici Nastavno-naučnog veća Farmaceutskog fakulteta Univerziteta u Beogradu, održanoj 14.06.2017. godine, imenovani smo u Komisiju za ocenu i odbranu završene doktorske disertacije koja je prijavljena pod naslovom „**Longitudinalne promene parametara za procenu insulinske rezistencije, adipocitokina i markera formiranja kostiju kod zdravih negojaznih trudnica**“, kandidata dipl. farm.-medicinskog biohemičara Marine Pijanović, specijaliste medicinske biohemije.

Posle pregledane disertacije podnosimo Nastavno-naučnom Veću Farmaceutskog fakulteta sledeći

I Z V E Š T A J

A. SADRŽAJ DOKTORSKE DISERTACIJE

Doktorska disertacija je napisana na 120 strana, ima 17 tabela, 3 slike i 279 literaturnih navoda. Sadržaj doktorske disertacije izložen je u sledećim poglavljima: Uvod (26 strana), Ciljevi istraživanja (1 strana), Materijali i metode (9 strana), Rezultati istraživanja (30 strana), Diskusija (20 strana), Zaključci (3 strane) i Literatura.

Ciljevi ove doktorske disertacije bili su sledeći: 1. Ispitati longitudinalne promene u nivoima insulina, HOMA indeksa, leptina, adiponektina, osteokalcina, P1NP i 25-hidroksi-vitamina D u serumu, kao i nivoa parametara lipidnog i redoks statusa tokom trudnoće bez komplikacija i posle porođaja. 2. Ispitati korelacije leptina i adiponektina sa parametrima insulinske rezistencije, kao i sa parametrima lipidnog i redoks statusa. 3. Ispitati korelacije osteokalcina i P1NP sa parametrima insulinske rezistencije, adiponektinom i leptinom, kao i sa parametrima lipidnog i redoks statusa, kako bi se utvrdilo da su eventualna dejstva na metabolizam glukoze specifična za osteokalcin, ali ne i za druge proizvode koji se oslobađaju u procesu formiranja kostiju, kao što je P1NP. 5. Ispitati korelacije 25-hidroksi-vitamina D sa osteokalcinom, adipocitokinima i parametrima lipidnog i redoks statusa.

U poglavlju **Materijali i metode** su dati podaci o ispitanicama i primenjenim metodama. Istraživanjem, koje je dizajnirano kao longitudinalna studija, inicijalno je obuhvaćeno 68 zdravih gravidnih žena, tokom prve prenatalne posete biohemijskoj laboratoriji Poliklinike Medilab u Čačku radi prenatalnog laboratorijskog screening-a. Sve ispitanice su dale pismeni pristanak za učešće u studiji, a istraživanje je izvršeno uz dozvolu Etičkog odbora Farmaceutskog fakulteta Univerziteta u Beogradu.

Kriterijumi za isključivanje su bili prisustvo hroničnih bolesti pre trudnoće, redovno uzimanje lekova, blizanačka trudnoća ili pojava neke komplikacije ili poremećaja u trudnoći. Od ukupnog broja iz studije je isključeno 30 trudnica: 22 trudnice su svojevolski odustale od studije u različitim etapama, dve su razvile GDM, četiri su se prevremeno porodile i dve su

imale spontani pobačaj. U studiji je ukupno preostalo 38 trudnica koje su trudnoću iznele do kraja i došle na kontrolu posle porođaja. Među njima je bilo 21 nulipara, 11 primipara i 6 multipara. Sve su se porodile vaginalnim putem ili elektivnim carskim rezom. Sva novorođenčad su bila zdrava i normalne veličine.

Svi uzorci su sakupljeni u pet poseta laboratoriji: u prvom trimestru (T1, medijana 13. nedelja trudnoće), drugom trimestru (T2, medijana 24. nedelja trudnoće), početkom trećeg trimestra (T3, medijana 29. nedelja trudnoće), u kasnom trećem trimestru (T4, medijana 36. nedelja trudnoće) i najmanje četiri nedelje posle porođaja (T4, medijana 5 nedelja posle porođaja).

Uzorkovanje je vršeno posle noćnog gladovanja (>10h), u serumsku epruvetu i epruvetu sa antikoagulansom EDTA. Zatim su uzorci centrifugirani na 1500g 10 min, podeljeni u alikvote od 200 μ L, zamrznuti na -80°C i čuvani do analiziranja, osim za merenja koja su vršena odmah.

Kod prve posete ispitanicama je zabeležena starost, gestaciona starost, izmerena visina i težina, za izračunavanje indeksa telesne mase (ITM, telesna masa,kg/visina,m²) i izmeren krvni pritisak. Kod svake sledeće posete zabeležena je gestaciona starost i izmerena težina i krvni pritisak.

Kod ispitanica su određeni i sledeći parametri:

1. Osnovni biohemijski i hematološki parametri
2. Insulin, osteokalcin, P1NP i 25-hidroksivitamin D, a izračunati su HOMA indeksi.
3. Lipidni status
4. Parametri oksidativnog stresa i antioksidativne zaštite: tiobarbiturna kiselina-reagujuća supstanca – TBARS, totalni oksidacioni status (TOS), ukupne sulfhidrilne grupe (SH grupe), totalni antioksidativni status (TAS) i prooksidativni-antioksidativni balans (PAB).

Podaci su prikazani kao srednja vrednost i standardna devijacija SD za normalno distribuirane varijable, i kao geometrijska sredina i 95-ti intervali pouzdanosti, ukoliko vrednosti nisu bile normalno distribuirane, ali su nakon logaritmovanja sledile normalnu raspodelu. Poređenje kontinuiranih varijabli je izvršeno analizom varijanse (ANOVA) sa ponovljenim merenjima sa post hoc Bonferroni korekcijom. Provera postojanja značajnih korelacionih odnosa između ispitivanih varijabli vršena je Spearman-ovom neparametarskom korelacionom analizom. Multipla regresiona analiza je korišćena za identifikaciju nezavisnih faktora uticaja na pojedine promenljive. Minimalan uslov za postojanje statistički značajne razlike je bio kada je verovatnoća (p, nivo značajnosti) bio manji ili jednak 0,05.

B. OPIS DOBIJENIH REZULTATA

U ispitivanju je učestvovalo 38 zdravih trudnica prosečne starosti 29,4 \pm 4,49 godina. Prema klasifikaciji Svetske zdravstvene organizacije sve su pre trudnoće bile negojazne, srednja vrednost ITM pre trudnoće je bila 21,8 \pm 3,2. Kako je očekivano, tokom trudnoće dolazi do kontinuiranog porasta telesne težine. Posle porođaja dolazi do gubitka telesne težine, ali je ona još uvek viša nego pre trudnoće.

Vrednosti sistolnog i dijastolnog pritiska kod svih trudnica bile su optimalne tokom celog perioda trudnoće

Vrednosti osnovnih biohemijskih i hematoloških parametara ispitanica kreću se tokom trudnoće u skladu sa očekivanim fiziološkim promenama koje prate zdravu trudnoću bez komplikacija. Tokom trudnoće došlo je do blagog porasta ukupnog broja leukocita, i njihovog pada posle porođaja. Koncentracija hemoglobina, broj eritrocita i hematokrit su pokazali smanjenje što je posledica fiziološke dilucione anemije tokom trudnoće, a posle porođaja je došlo do porasta njihovih vrednosti. Kao što je i očekivano, tokom trudnoće je došlo do smanjenja koncentracije proteina usled hemodilucije, pa su koncentracije u drugom i trećem trimestru značajno niže u odnosu na koncentracije u prvom trimestru i posle porođaja. Aktivnosti enzima AST i ALT tokom trudnoće su bile niže u odnosu na vrednosti posle porođaja. Koncentracija CRP-a je značajno porasla u drugom trimestru, a promene kasnije u toku trudnoće nisu bile statistički značajne. Posle porođaja, vrednosti CRP-a su bile značajno niže u odnosu na drugi i treći trimestar. Koncentracija mokraćne kiseline je progresivno rasla tokom trudnoće, najveće vrednosti imala pred porođaj, i ostala na tako visokom nivou i posle porođaja.

Vrednosti leptina i adiponektina, kao i parametara za procenu insulinske rezistencije takođe su se menjale tokom trudnoće i posle porođaja. Porast koncentracije leptina je dostigao statističku značajnost tek u trećem trimestru, a posle porođaja je koncentracije leptina niža. Iako su vrednosti koncentracije adiponektina tokom trudnoće pokazale tendenciju pada, ove promene nisu bile statistički značajne. Vrednosti posle porođaja su bile značajno niže u odnosu na vrednosti u prvom i drugom trimestru. Koncentracija insulina je bila najviša u kasnom trećem trimestru, a posle porođaja je značajno niža od vrednosti iz prvog i kasnog trećeg trimestra. Uočljiv je rast vrednosti HOMA-IR indeksa tokom trudnoće, međutim on nije bio statistički značajan. Značajno je bilo smanjenje njegove vrednosti posle porođaja. Vrednosti HOMA-%B indeksa su značajno porasle u trećem trimestru, a posle porođaja zabeležene su vrednosti koje su bile značajno niže od svih vrednosti dobijenih u trudnoći.

Promene u parametrima koštanog prometa su bile različite. Koncentracija osteokalcina bila je značajno niža u drugom trimestru, zatim je rasla tokom trudnoće i nakon porođaja bila značajno viša u odnosu na sve tačke tokom trudnoće. Koncentracija PINP je značajno rasla tokom trećeg trimestra i takođe posle porođaja ostala viša od svih vrednosti tokom trudnoće. Koncentracija 25(OH)D je imala značajan porast u drugom trimestru, i održala sličan nivo na početku trećeg trimestra. U kasnom trećem trimestru došlo je do njenog značajnog pada, a vrednosti posle porođaja su bile najniže, značajno niže od vrednosti u drugom i trećem trimestru.

Koncentracija ukupnog holesterola je bila statistički značajno viša u drugom trimestru i dalje je rasla tokom trudnoće, nakon porođaja je uočen pad ali su vrednosti bile statistički značajno više u poređenju sa prvim trimestrom. Sličan trend je pokazao i nivo triglicerida, s tim što je posle porođaja došlo do pada koncentracije triglicerida do vrednosti koje nisu bile značajno različite od vrednosti u prvom trimestru. Promene u koncentraciji LDL-holesterola su bile vrlo slične promenama u koncentraciji ukupnog holesterola. Koncentracija HDL-holesterola u drugom trimestru i trećem trimestra bila je značajno viša u odnosu na prvi trimester, a posle porođaja je došlo do značajnog pada u njegovoj koncentraciji, pa je vrednost bila značajno niža u odnosu na sve izmerene vrednosti tokom trudnoće.

Vrednosti TOS-a su značajno rasle tokom trudnoće, a posle porođaja su bile statistički značajno niže od vrednosti u kasnom trećem trimestru. Vrednosti TBARS, koji je krajnji proizvod razgradnje lipidnih peroksida, pokazale su tendenciju rasta tokom trudnoće, ali je ovaj porast dostigao statističku značajnost tek u kasnom trećem trimestru. Posle porođaja je došlo do značajnog pada vrednosti TBARS u odnosu na najvišu vrednost s kraja trudnoće. Tendenciju porasta tokom trudnoće su pokazale i vrednosti PAB-a, ali je samo vrednost u kasnom trećem trimestru bila statistički značajno veća. Posle porođaja, zabeleženo je značajno smanjenje koncentracije PAB u odnosu na sve vrednosti dobijene tokom trudnoće. Vrednosti TAS-a kao markera sveukupne antioksidativne zaštite nisu pokazale statistički značajne promene tokom trudnoće, ali je posle porođaja došlo do porasta koncentracije ovog parametra. Koncentracija ukupnih SH grupa, kao deo neenzimskog sistema odbrane od oksidativnog stresa, takođe je pokazala značajnu promenu tokom trudnoće. Vrednost sa početka trećeg trimestra je bila značajno veća od vrednosti u drugom trimestru. Koncentracija SH grupa posle porođaja je takođe bila značajno viša u odnosu na drugi trimestar.

Kako bi se ispitala povezanost leptina, kao produkta masnog tkiva i placente, i metabolizma glukoze i lipida, ali i inflamacije, oksidativnog stresa i procesa formiranja kostiju, primenjena je Spearman-ova neparametarska korelaciona analiza. Koncentracija leptina je bila u značajnoj pozitivnoj korelaciji sa ITM, koncentracijom mokraćne kiseline, CRP, insulina, HOMA-IR i HOMA-%B indeksima, kao i sa koncentracijom osteokalcina, P1NP i TOS, a u negativnoj korelaciji sa koncentracijom adiponektina. Kako je Spearmanovom neparametarskom korelacionom analizom pokazano da je veći broj parametara u značajnoj korelaciji sa koncentracijom leptina u trećem trimestru, u sledećem koraku je ispitivan nezavisan uticaj ovih parametara na koncentraciju leptina. Rezultati ove analize su pokazali da je jedino ITM nezavisno povezan sa koncentracijom leptina u trećem trimestru i da se 16,5% porasta leptina tokom trudnoće može objasniti povećanjem telesne težine trudnice tokom nekomplikovane trudnoće.

Posle ispitivanja longitudinalnih promena u koncentraciji adiponektina tokom trudnoće i posle porođaja, sledeći korak je bio Spearman-ova neparametarska korelaciona analiza kako bi se ispitala povezanost adiponektina i drugih biohemijskih parametara u trećem trimestru. Koncentracija adiponektina je bila u značajnoj pozitivnoj korelaciji koncentracijom HDL-holesterola, a u značajnoj negativnoj korelaciji sa ITM, koncentracijom glukoze, triglicerida, insulina, HOMA-IR indeksom, kao i sa koncentracijom osteokalcina, TOS i leptina. Multipla regresiona analiza je pokazala da je jedino HDL-holesterol nezavisno povezan sa koncentracijom adiponektina i da se 18,6% porasta adiponektina tokom trudnoće može objasniti povećanjem koncentracije HDL-holesterola tokom trudnoće.

Treći trimestar karakterišu izražene promene u koncentraciji osteokalcina i P1NP, kao i promene u parametrima insulinske rezistencije i drugih biohemijskih parametara. Koncentracija osteokalcina je bila u značajnoj pozitivnoj korelaciji sa ITM, koncentracijom triglicerida, mokraćne kiseline, insulina i leptina, kao i sa vrednostima HOMA-IR i HOMA-%B indeksa, P1NP i TAS-a, a u značajnoj negativnoj korelaciji sa koncentracijom adiponektina. Rezultati multiple regresione analize su pokazali da je jedino TAS nezavisno povezan sa koncentracijom osteokalcina u trećem trimestru i da se 18,6% porasta koncentracije osteokalcina može objasniti

povećanjem koncentracije TAS. Koncentracija P1NP je bila u značajnoj pozitivnoj korelaciji sa ITM, koncentracijom insulina, HOMA-IR i HOMA-%B indeksom, koncentracijom osteokalcina i leptina, a u negativnoj korelaciji sa koncentracijom adiponektina, a nijedan od ovih parametara nije bio nezavisno povezan sa koncentracijom P1NP.

C. UPOREDNA ANALIZA REZULTATA IZ DOKTORSKE DISERTACIJE SA PODACIMA IZ LITERATURE

U ovom istraživanju su kao parametri za procenu insulinske rezistencije korišćeni insulin i HOMA indeksi- HOMA-IR za procenu insulinske rezistencije, a HOMA-%B za procenu bazalne sekrecije insulina. Vrednosti insulina i HOMA-%B posle porođaja su pokazale izražen pad, što potvrđuje hipotezu da je insulinska rezistencija i povećana produkcija insulina u trudnoći reverzibilan proces i da je u odsustvu patoloških procesa, potreban relativno kratak period da se produkcija insulina vrati na vrednost karakterističnu za negravidno stanje. Postoje dokazi da do povećanja produkcije insulina u trudnoći dolazi zbog adaptivnog povećanja broja Langerhansovih ostrvaca pankreasa i sniženja pankreasnog praga odnosno potrebnog nivoa glukoze koji dovodi do sekrecije insulina (1). Endo i saradnici (2) su našli više vrednosti HOMA-IR kod trudnica sa GDM, ali i kod gojaznih trudnica sa normoglikemijom, u odnosu na zdrave negojazne trudnice. Oni su ispitivali odvojene grupe trudnica u prvom, drugom i trećem trimestru, i nisu našli porast HOMA-IR sa napredovanjem gestacije, ali je porast HOMA-%B bio značajan, što je slično ovim rezultatima. Ni Das i saradnici (3) nisu našli veće vrednosti HOMA-IR kod trudnica u 24-28 nedelji gestacije u odnosu na negravidne kontrole, ali su našli značajno viši HOMA-%B.

Koncentracija leptina je rasla tokom trudnoće do najviše vrednosti na početku trećeg trimestra, a zatim je došlo do njenog postepenog pada i najniža vrednost je bila posle porođaja. Ovi rezultati su u skladu sa prethodnim studijama, u kojima je opisano da leptin raste od početka trudnoće, da maksimalne vrednosti u krvi majke dostiže krajem drugog ili početkom trećeg trimestra, a da zatim opada (4). Multipla linearna regresiona analiza je pokazala da je jedino ITM nezavisno povezan sa koncentracijom leptina u trećem trimestru. Objašnjenje ovog rezultata leži u činjenici da porastu telesne mase tj. ITM trudnice doprinose porast masnog tkiva i placente, a upravo su masno tkivo i placenta izvori leptina u trudnoći. Neki autori smatraju se da je kod negojaznih žena procentualno veći porast sadržaja masnog tkiva u organizmu tokom trudnoće u odnosu na gojazne žene, pa da je zato i porast koncentracije leptina izraženiji (5). Drugi autori međutim smatraju da je dominantan izvor leptina u trudnoći ipak placenta (6), zato što do značajnog povećanja koncentracije leptina dolazi i pre značajnog porasta masnog tkiva majke.

Osim hormona kao što su hCG i estradiol, placentalnu ekspresiju leptina povećava i insulin (7). U ovom istraživanju, leptin je bio u pozitivnoj korelaciji sa koncentracijom insulina, što ide u prilog toj činjenici. Leptin je bio u pozitivnoj korelaciji i sa HOMA indeksom, pa možemo pretpostaviti da je on jedan od faktora koji utiče na razvoj insulinske rezistencije u trudnoći. To je u skladu sa prethodnim studijama u kojima je ispitivana korelacija leptina i ovih parametara kod trudnica (2, 4). Kako je trudnoća stanje centralne rezistencije na leptin, od velikog značaja su njegova periferna dejstva. Leptin proizveden u placenti deluje lokalno, tako

što reguliše rast placente, stimuliše preuzimanje aminokiselina, deluje mitogeno i antiapoptotski (8). Uticaj leptina na rast placente posebno je izražen u GDM, gde su vrednosti leptina značajno veće u odnosu na normalnu trudnoću, i gde dolazi do hipertrofije placente (9). Značajan i za rast i razvoj fetusa, posebno za razvoj kostiju i pluća, ali nije jasno da li je za fetus značajniji fetalni leptin ili leptin poreklom iz placente (9).

Uticaj leptina na metabolizam kostiju je složen, i odvija se na centralnom i perifernom nivou. Svojim centralnim dejstvom preko hipotalamusa, leptin deluje inhibitorno na proces formiranja kostiju (10). S druge strane, svojim direktnim dejstvom, on povećava proliferaciju i diferencijaciju osteoblasta i deluje stimulatorno na mineralizaciju i rast kostiju. Njegova periferna dejstva su usmerena ka očuvanju skeleta, što je u skladu s činjenicom da veći sadržaj masnog tkiva zahteva i jači skelet kao potporu. Smatra se da periferna dejstva leptina na kosti dominiraju, posebno u stanjima koja karakteriše centralna rezistencija na leptin. Kako je trudnoća takvo stanje, očekivano je da povećanje koncentracije leptina bude povezano sa povećanim formiranjem kostiju. Koncentracija leptina u trećem trimestru bila je u značajnoj pozitivnoj korelaciji sa koncentracijom osteokalcina i P1NP, što je u skladu sa prethodno navedenim, ali je u suprotnosti sa rezultatima Saucedo i saradnika (11).

Koncentracija adiponektina je pokazala tendenciju pada tokom trudnoće, ali to sniženje nije bilo statistički značajno i tek su vrednosti posle porođaja bile statistički značajno niže od vrednosti u prvom i drugom trimestru. U studiji Mastorakosa i saradnika nije bilo značajne promene u koncentraciji adiponektina tokom trudnoće (12), dok su Fuglsang i saradnici opisali da inicijalno dolazi do porasta koncentracije adiponektina do najviših vrednosti sredinom gestacije, a da zatim dolazi do sniženja njegove koncentracije, ali na relativno malom broju ispitanica (13). Catalano i saradnici su pronašli da u trećem trimestru dolazi do značajnog smanjenja koncentracije adiponektina u odnosu na vrednosti pre trudnoće, kao i do smanjene ekspresije gena za adiponektin u masnom tkivu (14). Razlike u rezultatima između navedenih studija možda se mogu objasniti različitim metodologijama merenja koncentracije adiponektina, kao i relativno malim brojem ispitanica, međutim zajedničko im je da su sve opisale tendenciju smanjenja koncentracije adiponektina u kasnoj trudnoći i posle porođaja. To je verovatno u prvom redu posledica inhibitornog dejstva rastuće koncentracije prolaktina na sekreciju adiponektina, ali moguće je da utiču i glukokortikoidi, proinflamatorni citokini i oksidativni stres.

Adiponektin povećava osetljivost perifernih tkiva na dejstva insulina (15). U ovom istraživanju, koncentracija adiponektina je bila u negativnoj korelaciji sa parametrima insulinske rezistencije - sa koncentracijom insulina i HOMA-IR indeksom, ali i sa koncentracijom glukoze, što je u skladu sa nekim od prethodnih studija (14, 16, 17). Kako adiponektin povećava osetljivost tkiva majke na insulin, pad njegove koncentracije je mogao biti očekivan, posebno u kasnoj trudnoći kada je insulinska rezistencija tkiva majke najizraženija, kako bi se održala adekvatna snabdevenost fetusa glukozom. S druge strane, mora se uzeti u obzir da su dejstva adiponektina složena, i da postoje dokazi da u placenti deluje suprotno, tj. tako što povećava insulinsku rezistenciju (18).

Uticaj adiponektina na metabolizam kostiju je kompleksan, kao i u slučaju leptina. Lokalno sintetisan adiponektin stimuliše formiranje kostiju svojim autokrinim/parakrinim

dejstvom; cirkulišući adiponektin deluje inhibitorno na ovaj proces direktnim dejstvom, a stimulatorno indirektnim dejstvom, potenciranjem dejstva insulina (19). Kako nije bilo značajne korelacije sa parametrom P1NP, moguće je da je korelacija sa osteokalcinom posledica specifičnih dejstava osteokalcina koje nemaju drugi produkti koji se u cirkulaciju oslobađaju u procesu formiranja kostiju. Eksperimenti na adipocitima su pokazali da osteokalcin povećava produkciju

Koncentracija adiponektina je bila u pozitivnoj korelaciji sa koncentracijom HDL-holesterola, a u negativnoj sa koncentracijom triglicerida u trećem trimestru, što je u skladu sa rezultatima studije Ritteratha i saradnika (20). Rezultati ove studije su pokazali da je samo koncentracija HDL-holesterola nezavisno povezana sa nivoom adiponektina i da se blizu 20% promene u koncentraciji adiponektina može objasniti promenom u koncentraciji HDL-holesterola. Slična nezavisna pozitivna korelacija adiponektina i HDL-holesterola je zabeležena kod muškaraca i ne gravidnih žena (21, 22) i ide u prilog hipotezi da adiponektin ima antiaterogena dejstva koja su posredovana HDL-holesterolom.

Trudnoća je stanje koje karakterišu izražene promene koštanog prometa. U prvom delu trudnoće dolazi do povećanja resorpcije kostiju, zatim dolazi do postepenog intenziviranja procesa formiranja kostiju (23), što potvrđuju i rezultati ove disertacije. Koncentracija P1NP je bila značajno veća na početku trećeg trimestra u odnosu na drugi trimestar, a zatim je u kasnom trećem trimestru došlo do daljeg porasta njegove koncentracije, da bi se i posle porođaja se održao visok nivo ovog parametra. Ovi rezultati su u skladu sa prethodnim longitudinalnim studijama koje su ispitivale nivo P1NP u normalnoj nekomplikovanoj trudnoći (24, 25). Povećanje koncentracije P1NP specifično odražava intenziviranje procesa formiranja kostiju sa napredovanjem trudnoće, s obzirom da P1NP proizvod koji se oslobađa prilikom sinteze kolagena tipa 1 u kostima, a da je metabolički inertan.

Koncentracija osteokalcina bila je statistički značajno niža u drugom trimestru u poređenju sa prvim trimestrom. Ovo sniženje se može objasniti povećanim renalnim izlučivanjem i hemodilucijom. Kasnije tokom trudnoće, došlo je do porasta njegove koncentracije, pa su vrednosti u kasnom trećem trimestru bile više od vrednosti izmerenih u prvom trimestru. Slične promene koncentracije osteokalcina tokom trudnoće opisale su i druge studije (26, 27), mada su Naylor i saradnici opisali sniženje koncentracije osteokalcina tokom trudnoće (28). Promene u koncentraciji osteokalcina su u najvećoj meri posledica promena u koštanom prometu.

U drugom trimestru je došlo do porasta koncentracije 25(OH)D i visok nivo je zabeležen i na početku trećeg trimestra. U kasnom trećem trimestru je došlo do pada njegove koncentracije, a posle porođaja je zabeležena najniža vrednost. Ovi rezultati se mogu objasniti sezonskim promenama koje su praćene promenama u koncentraciji vitamina D i uzorkovanjem koje je započelo u periodu april-jun, a završeno u zimskom periodu. I druge studije koje su u obzir uzele sezonske varijacije koncentracije 25(OH)D opisale su smanjenje njegove koncentracije od sredine trudnoće, sa najnižim vrednostima oko 36. nedelje gestacije (29, 30). U literaturi ima podataka da u trudnoći dolazi do kontinuiranog porasta u koncentraciji aktivnog metabolita vitamina D, 1,25(OH)₂D (31, 32). Porast 1,25(OH)₂D se smatra činiocem koji dovodi do povećanja intestinalne apsorpcije kalcijuma kako bi se zadovoljile potrebe rastućeg fetusa, iako postoje indicije da nije neophodan u ovom procesu (33).

Progresivno povećanje koncentracije holesterola, koje je značajno već od drugog trimestra, ima fiziološku ulogu jer je holesterol supstrat za sintezu steroidnih hormona čija koncentracija raste u trudnoći, a može biti značajan i za fetus u periodu dok je fetalna sinteza holesterola nedovoljna. Gotovo isti trend porasta je pokazao i nivo LDL-holesterola i najviše vrednosti su zabeležene u trećem, što je u skladu sa prethodnim studijama (34, 35). Porast koncentracije triglicerida je još izraženiji, što je takođe u skladu sa rezultatima prethodnih studija (36, 37). Hipertrigliceridemija u trudnoći nastaje zbog povećane lipolize i smanjenog uklanjanja VLDL čestica iz cirkulacije. Povećanje koncentracije triglicerida tokom trudnoće ima veliki fiziološki značaj, oni su mobilni energetske depo i i izvor esencijelnih masnih kiselina za fetus.

Trudnoća se smatra stanjem u kome dolazi do povećanja intenziteta oksidativnog stresa, koji je u normalnim uslovima reverzibilan i praćen povećanim antioksidativnim odgovorom. Vrednosti totalnog oksidativnog statusa (TOS), čije su glavne komponente vodonik peroksid i lipidni peroksidi, bile su statistički značajno najveće u trećem trimestru, a posle porođaja je došlo do njihovog značajnog smanjenja, što je u skladu sa rezultatima drugih istraživanja (38). Parametar TBARS, koji obuhvata malon-dialdehid (MDA) i srodne aldehide kao konačne proizvode lipidne peroksidacije, nije se značajno menjao do pred kraj trudnoće kada su vrednosti bile najveće, da bi posle porođaja došlo do značajnog pada njegove koncentracije, a do sličnih rezultata su došli i drugi autori (39, 40). Glavne komponente TAS-a su sulfhidrilne grupe proteina, mokraćna kiselina, vitamin C i vitamin E. Nekoliko studija je opisalo porast nivoa TAS u kasnoj trudnoći (38, 41), ali u ovom istraživanju porast nije bio statistički značajan. Ukupne SH grupe su važan konstituent antioksidativnog sistema organizma, i u njihov sastav ulaze SH grupe proteina plazme, u prvom redu albumina, kao i SH grupe glutationa, homocisteina, cisteinilglicina i cisteina. U ovom istraživanju, vrednosti ukupnih SH grupa na početku trećeg trimestra su bile značajno veće od vrednosti u drugom trimestru, a vrednosti posle porođaja su i dalje bile na visokom nivou. Kako je koncentracija ukupnih proteina najniža u trećem trimestru, moguće je da je u ovom periodu došlo do porasta neproteinskih SH grupa. Leal i saradnici (39) su međutim pronašli da je nivo ukupnih SH grupa niži kod trudnica u trećem trimestru u odnosu na negravidne žene.

D. OBRAZLOŽENJE NAUČNOG DOPRINOSA DOKTORSKE DISERTACIJE

Insulinska rezistencija u kasnoj trudnoći je posledica fiziološke adaptacije majke koja za cilj ima obezbeđivanje glukoze rastućem fetusu. Smatra se da nastaje prvenstveno kao posledica dejstva hormona placente, kao što su humani placentalni laktogen, estrogeni i progesteron. Insulinska rezistencija koja se javlja tokom trudnoće, manifestuje se povećanom produkcijom insulina. Gestacijski dijabetes melitus (GDM) se razvija ukoliko β -ćelije pankreasa nisu u mogućnosti da produkuju adekvatne količine insulina koje bi kompenzovale nastanak insulinske rezistencije.

Eksperimenti na miševima i ćelijskim kulturama su pokazali značaj osteokalcina, proteina koga produkuju osteoblasti, na osetljivost ćelija prema insulinu, i na produkciju insulina od strane β -ćelija pankreasa (27). Ova dejstva osteokalcina su potvrđena i kod različitih grupa pacijenata (42), čime je kost, organ koji se tradicionalno posmatra kao potporni organ i

deo lokomotornog sistema, dobila na značaju i kao endokrini organ, a osteokalcin kao endokrini medijator. Malobrojni su radovi koji su ispitali vezu osteokalcina i insulinske rezistencije u normalnoj, nekomplikovanoj trudnoći. Istovremeno, osteokalcin deluje na adipocite, dovodi do povećanja produkcije adiponektina, čije su niske koncentracije takođe povezane sa razvojem insulinske rezistencije i tipom 2 dijabetes melitusa. Iako su rezultati prethodnih studija pokazali postojanje pozitivne korelacije između koncentracije osteokalcina i adiponektina (43,44), ne postoje studije koje su proučavale odnos ova dva parametra tokom trudnoće. S druge strane, osteokalcin se u kliničkoj praksi koristi kao marker formiranja kostiju, pa su očekivane longitudinalne promene u serumskom osteokalcinu posledica i promenjenog koštanog metabolizma u toku trudnoće (23). U toku ove studije, planirano je i određivanje drugog markera formiranja kostiju, P1NP, koji nastaje tokom procesa formiranja kostiju, oslobađa se u cirkulaciju ali nema poznata dejstva na metabolizam glukoze. Time bi se ispitalo da li je eventualni uticaj osteokalcina na metabolizam glukoze i insulinsku rezistenciju specifičan za osteokalcin.

Vitamin D je značajan u regulaciji metabolizma kalcijuma i kostiju i utiče na ekspresiju gena za osteokalcin. Poslednjih godina se sve više poklanja pažnja drugim dejstvima ovog vitamina-hormona, kao što je uticaj na osetljivost tkiva na insulin. Postoje dokazi da je nizak nivo vitamina D u ranoj trudnoći nezavisan faktor rizika za razvoj GDM, kao i da je povezan sa insulinskom rezistencijom kasnije u trudnoći (45).

Leptin je adipocitokin koji ima ulogu u energetskom metabolizmu, regulaciji apetita, inflamaciji, imunskom odgovoru, reprodukciji i angiogenezi (9). Proizvode ga primarno adipociti, ali ga u trudnoći proizvodi i placenta (8). Adiponektin produkuju adipociti, on povećava osetljivost na insulin, i ima antiinflamatorna i antiaterogena svojstva, stimuliše preuzimanje glukoze od strane skeletnih mišića i smanjuje hepatičnu produkciju glukoze (9). Rezultati prethodnih studija koje su se bavile ispitivanjem koncentracije adiponektina tokom trudnoće, nisu konzistentni; opisano je sniženje koncentracije adiponektina tokom trudnoće (14), ali je zabeležen i viši nivo adiponektina u trudnoći u odnosu na period posle porođaja (46). Nivo adiponektina je niži kod trudnica sa GDM u odnosu na trudnice sa normalnom tolerancijom na glukozu. I leptin i adiponektin su mogući regulatori razvoja insulinske rezistencije u normalnoj trudnoći. Osim toga, leptin ima dejstvo na metabolizam kostiju, delujući centralno, preko hipotalamusa i aktivacije simpatikusa, i na taj način inhibira proces formiranja kostiju, ali i direktno na kost, tako što ubrzava diferencijaciju i proliferaciju osteoblasta, kao i mineralizaciju kostiju. Na osnovu svega navedenog, važno je ispitati postojanje veze između koncentracije leptina i osteokalcina tokom fiziološke, nekomplikovane trudnoće, s obzirom da nema studija koje su to ispitali.

Normalna, nekomplikovana trudnoća je praćena promenom redoks statusa. Na osnovu rezultata prethodnih studija može se zaključiti da tokom trudnoće dolazi do porasta parametara oksidativnog stresa kao i do kompenzatornog povećanja parametara antioksidativne zaštite (47). Takođe, na oksidativni status u trudnoći utiču i životne navike trudnica, kao što su pušenje, fizička aktivnost, izloženost zagađenju okoline kao i socio-ekonomski uslovi života. Ispitivanja in vitro su pokazala da povećan oksidativni stres dovodi do smanjene ekspresije različitih

produkata osteoblasta, izuzev osteokalcina kome povećava ekspresiju. Veza između smanjenog formiranja kostiju i smanjenog antioksidativnog kapaciteta je opisana u stanjima kao što je osteoporoza, ali nema sličnih podataka za trudnoću.

Poznato je i da u trudnoći dolazi do izraženih promena u koncentraciji svih frakcija lipida. Koncentracija ukupnog holesterola, LDL-holesterola i triglicerida se povećava, a najizraženiji je porast koncentracije triglicerida. Ove promene nastaju kao posledica hormonskih adaptacija organizma majke, u prvom redu rastuće insulinske rezistencije, i vode nastanku proaterogenog profila. Međutim, dolazi i do porasta HDL-holesterola, koji ima ateroprotektivno dejstvo.

Citirana literatura

1. Butler AE, Cao-Minh L, Galasso R, Rizza RA, Corradin A, Cobelli C, et al. Adaptive changes in pancreatic beta cell fractional area and beta cell turnover in human pregnancy. *Diabetologia*. 2010 Oct;53(10):2167–76.
2. Endo S, Maeda K, Suto M, Kaji T, Morine M, Kinoshita T, et al. Differences in insulin sensitivity in pregnant women with overweight and gestational diabetes mellitus. *Gynecol Endocrinol*. Informa UK Ltd UK; 2006 Jun 7;22(6):343–9.
3. Das S, Behera MK, Misra S, Baliarsihna AK. Beta-cell function and insulin resistance in pregnancy and their relation to fetal development. *Metab Syndr Relat Disord*. 2010 Feb;8(1):25–32.
4. Eriksson B, Löf M, Olausson H, Forsum E. Body fat, insulin resistance, energy expenditure and serum concentrations of leptin, adiponectin and resistin before, during and after pregnancy in healthy Swedish women. *Br J Nutr*. 2010 Jan;103(1):50–7.
5. Castellano Filho DS, do Amaral Correa JO, Dos Santos Ramos P, de Oliveira Montessi M, Aarestrup BJV, Aarestrup FM. Body weight gain and serum leptin levels of non-overweight and overweight/obese pregnant women. *Med Sci Monit*. 2013;19:1043–9.
6. Pérez-Pérez A, Sánchez-Jiménez F, Maymó J, Dueñas JL, Varone C, Sánchez-Margalet V. Role of leptin in female reproduction. *Clin Chem Lab Med*. 2015 Jan 1;53(1):15–28.
7. Perez-Perez A, Maymo J, Gambino Y, Guadix P, Duenas JL, Varone C, et al. Insulin Enhances Leptin Expression in Human Trophoblastic Cells. *Biol Reprod*. 2013 Jul 25;89(1):20–20.
8. Henson MC, Castracane VD. Leptin in pregnancy: an update. *Biol Reprod*. 2006 Feb;74(2):218–29.
9. Miehle K, Stepan H, Fasshauer M. Leptin, adiponectin and other adipokines in gestational diabetes mellitus and pre-eclampsia. *Clin Endocrinol (Oxf)*. 2012 Jan;76(1):2–11.
10. Ducy P, Amling M, Takeda S, Priemel M, Schilling AF, Beil FT, et al. Leptin Inhibits Bone Formation through a Hypothalamic Relay. *Cell*. 2000 Jan;100(2):197–207.
11. Saucedo R, Rico G, Vega G, Basurto L, Cordova L, Galvan R, et al. Osteocalcin, under-carboxylated osteocalcin and osteopontin are not associated with gestational diabetes mellitus but are inversely associated with leptin in non-diabetic women. *J Endocrinol Invest*. 2015 38(5):519-26

12. Mastorakos G, Valsamakis G, Papatheodorou DC, Barlas I, Margeli A, Boutsiadis A, et al. The role of adipocytokines in insulin resistance in normal pregnancy: visfatin concentrations in early pregnancy predict insulin sensitivity. *Clin Chem*. 2007 Aug 1;53(8):1477–83.
13. Fuglsang J, Skjaerbaek C, Frystyk J, Flyvbjerg A, Ovesen P. A longitudinal study of serum adiponectin during normal pregnancy. *BJOG*. 2006 Jan;113(1):110–3.
14. Catalano PM, Hoegh M, Minium J, Huston-Presley L, Bernard S, Kalhan S, et al. Adiponectin in human pregnancy: implications for regulation of glucose and lipid metabolism. *Diabetologia*. 2006 Jul;49(7):1677–85.
15. Wang Z V, Scherer PE. Adiponectin, the past two decades. *J Mol Cell Biol*. Oxford University Press; 2016 Apr;8(2):93–100.
16. Srichomkwun P, Houngngam N, Pasatrat S, Tharavanij T, Wattanachanya L, Khovidhunkit W. Undercarboxylated osteocalcin is associated with insulin resistance, but not adiponectin, during pregnancy. *Endocrine*. Springer US; 2016 Jul 26;53(1):129–35.
17. Ahlsson F, Diderholm B, Ewald U, Jonsson B, Forslund A, Stridsberg M, et al. Adipokines and their relation to maternal energy substrate production, insulin resistance and fetal size. *Eur J Obstet Gynecol Reprod Biol*. 2013 May;168(1):26–9.
18. Aye ILMH, Powell TL, Jansson T, Hull HR, Dinger MK, Knehans AW, et al. Review: Adiponectin--the missing link between maternal adiposity, placental transport and fetal growth? *Placenta*. Elsevier; 2013 Mar;34 Suppl:S40-5.
19. Shinoda Y, Yamaguchi M, Ogata N, Akune T, Kubota N, Yamauchi T, et al. Regulation of bone formation by adiponectin through autocrine/paracrine and endocrine pathways. *J Cell Biochem*. Wiley Subscription Services, Inc., A Wiley Company; 2006 Sep 1;99(1):196–208.
20. Ritterath C, Rad NT, Siegmund T, Heinze T, Siebert G, Buhling KJ. Adiponectin during pregnancy: correlation with fat metabolism, but not with carbohydrate metabolism. *Arch Gynecol Obstet*. 2010 Jan;281(1):91–6.
21. Geloneze B, Pereira JA, Pareja JC, Lima MM de O, Lazzarin MACT, Souza ICP de, et al. Overcoming metabolic syndrome in severe obesity: adiponectin as a marker of insulin sensitivity and HDL-cholesterol improvements after gastric bypass. *Arq Bras Endocrinol Metabol*. 2009 Mar;53(2):293–300.
22. Schneider JG, von Eynatten M, Schiekofer S, Nawroth PP, Dugi KA. Low Plasma Adiponectin Levels Are Associated With Increased Hepatic Lipase Activity In Vivo. *Diabetes Care*. 2005;28(9): 2181-2186
23. Akesson A, Vahter M, Berglund M, Eklöf T, Bremme K, Bjellerup P. Bone turnover from early pregnancy to postweaning. *Acta Obstet Gynecol Scand*. 2004 Nov;83(11):1049–55.
24. Hellmeyer L, Ziller V, Anderer G, Ossendorf A, Schmidt S, Hadji P. Biochemical markers of bone turnover during pregnancy: a longitudinal study. *Exp Clin Endocrinol Diabetes*. 2006 Oct;114(9):506–10.
25. Kaur M, Godber IM, Lawson N, Baker PN, Pearson D, Hosking DJ. Changes in serum markers of bone turnover during normal pregnancy.1. Kaur M, Godber IM, Lawson N, Baker PN, Pearson D, Hosking DJ. Changes in serum markers of bone turnover during normal pregnancy. *Ann Clin Biochem*. 2003 Sep;40(Pt 5):508–13.
26. Ulrich U, Miller PB, Eyre DR, Chesnut CH, Schlebusch H, Soules MR. Bone remodeling

- and bone mineral density during pregnancy. *Arch Gynecol Obstet*. 2003 Oct;268(4):309–16.
27. Lee SW, Yang JH, Hong DS, Kim MY, Chung JH, Han KO, et al. Changes in biochemical markers of bone turnover and bone mineral density during pregnancy and postpartum in Korean women. *Korean J Obstet Gynecol*. 2009;52(2):166–79.
 28. Naylor KE, Iqbal P, Fledelius C, Fraser RB, Eastell R. The effect of pregnancy on bone density and bone turnover. *J Bone Miner Res*. 2000 Jan;15(1):129–37.
 29. Fernández-Alonso AM, Dionis-Sánchez EC, Chedraui P, González-Salmerón MD, Pérez-López FR, Spanish Vitamin D and Women's Health Research Group. First-trimester maternal serum 25-hydroxyvitamin D3 status and pregnancy outcome. *Int J Gynecol Obstet*. 2012 Jan;116(1):6–9.
 30. Zhang JY, Lucey AJ, Horgan R, Kenny LC, Kiely M, Brannon PM, et al. Impact of pregnancy on vitamin D status: a longitudinal study. *Br J Nutr*. Cambridge University Press; 2014 Oct 27;112(7):1081–7.
 31. Halhali A, Villa AR, Madrazo E, Soria MC, Mercado E, Díaz L, et al. Longitudinal changes in maternal serum 1,25-dihydroxyvitamin D and insulin like growth factor I levels in pregnant women who developed preeclampsia: comparison with normotensive pregnant women. *J Steroid Biochem Mol Biol*. 2004 May;89–90(1–5):553–6.
 32. Barrett H, McElduff A. Vitamin D and pregnancy: An old problem revisited. *Best Pract Res Clin Endocrinol Metab*. 2010 Aug;24(4):527–39.
 33. Kovacs CS. Calcium and bone metabolism during pregnancy and lactation. *J Mammary Gland Biol Neoplasia*. 2005 Apr;10(2):105–18.
 34. Belo L, Caslake M, Gaffney D, Santos-Silva A, Pereira-Leite L, Quintanilha A, et al. Changes in LDL size and HDL concentration in normal and preeclamptic pregnancies. *Atherosclerosis*. 2002 Jun;162(2):425–32.
 35. Ogura K, Miyatake T, Fukui O, Nakamura T, Kameda T, Yoshino G. Low-density lipoprotein particle diameter in normal pregnancy and preeclampsia. *J Atheroscler Thromb*. 2002;9(1):42–7.
 36. Amundsen AL, Khoury J, Iversen PO, Bergei C, Ose L, Tonstad S, et al. Marked changes in plasma lipids and lipoproteins during pregnancy in women with familial hypercholesterolemia. *Atherosclerosis*. 2006 Dec;189(2):451–7.
 37. Gunderson EP, Lewis CE, Murtaugh MA, Quesenberry CP, Smith West D, Sidney S. Long-term plasma lipid changes associated with a first birth: the Coronary Artery Risk Development in Young Adults study. *Am J Epidemiol*. 2004 Jun 1;159(11):1028–39.
 38. Stefanovic A, Ardalic D, Kotur-Stevuljevic J, Vujovic A, Spasic S, Spasojevic-Kalimanovska V, Jelic-Ivanovic Z, Mandic-Markovic V, Mikovic Z, Cerovic N. Longitudinal changes in PON1 activities, PON1 phenotype distribution and oxidative status throughout normal pregnancy. *Reproductive Toxicology*. 2012;33(1):20–26.
 39. Leal CAM, Schetinger MRC, Leal DBR, Morsch VM, da Silva AS, Rezer JFP, et al. Oxidative stress and antioxidant defenses in pregnant women. *Redox Rep*. Taylor & Francis; 2011 Nov 19;16(6):230–6.
 40. D'Souza V, Rani A, Patil V, Pisal H, Randhir K, Mehendale S, et al. Increased oxidative stress from early pregnancy in women who develop preeclampsia. *Clin Exp Hypertens*. Informa Healthcare; 2016 Feb 17;38(2):225–32.

41. Hung T-H, Lo L-M, Chiu T-H, Li M-J, Yeh Y-L, Chen S-F, et al. A longitudinal study of oxidative stress and antioxidant status in women with uncomplicated pregnancies throughout gestation. *Reprod Sci*. SAGE Publications; 2010 Apr 1;17(4):401–9.
42. Buday B, Pach FP, Literati-Nagy B, Vitai M, Vecsei Z, Koranyi L. Serum osteocalcin is associated with improved metabolic state via adiponectin in females versus testosterone in males. Gender specific nature of the bone-energy homeostasis axis. *Bone*. 2013;57(1):98–104.
43. Kanazawa I, Yamaguchi T, Yamamoto M, Yamauchi M, Kurioka S, Yano S, et al. Serum osteocalcin level is associated with glucose metabolism and atherosclerosis parameters in type 2 diabetes mellitus. *J Clin Endocrinol Metab*. 2009;94(1):45–9.
44. Choudhury AB, Sarkar PD, Sakalley DK, Petkar SB. Role of adiponectin in mediating the association of osteocalcin with insulin resistance and type 2 diabetes: a cross sectional study in pre- and post-menopausal women. *Arch Physiol Biochem*. 2014;120(2):73–9.
45. Lacroix M, Battista M-C, Doyon M, Houde G, Ménard J, Ardilouze J-L, et al. Lower vitamin D levels at first trimester are associated with higher risk of developing gestational diabetes mellitus. *Acta Diabetol*. 2014;51(4):609–16.
46. Mazaki-Tovi S, Kanety H, Pariente C, Hemi R, Wiser A, Schiff E, et al. Maternal serum adiponectin levels during human pregnancy. *J Perinatol*. 2007;27(2):77–81.
47. Toescu V, Nuttall SL, Martin U, Kendall MJ, Dunne F. Oxidative stress and normal pregnancy. *Clin Endocrinol (Oxf)*. 2002;57(5):609–13.

E. OBJAVLJENI I SAOPŠTENI REZULTATI KOJI ČINE SASTAVNI DEO DOKTORSKE DISERTACIJE

M23 – Rad u međunarodnom naučnom časopisu

1. Pijanovic M, Stefanovic A, Miljkovic M, Maric-Krejovic S, Spasic S. Association of osteocalcin, insulin resistance and oxidative stress during noncomplicated pregnancy. *Laboratoriumsmedizin – Journal of Laboratory Medicine* 2016; 40: 247-253.
2. Pijanovic M, Stefanovic A, Miljkovic M, Maric-Krejovic S, Spasic S. Longitudinal changes in leptin and adiponectin concentrations through uncomplicated pregnancy. *Laboratoriumsmedizin – Journal of Laboratory Medicine* 2017; primljen za štampu.

F. MIŠLJENJE I PREDLOG KOMISIJE

Razmatrajući sve što je izloženo u doktorskoj disertaciji kandidata dipl.farm.-med. biohemičara Marine Pijanović, specijaliste medicinske biohemije, Komisija je konstatovala da je kandidat uspešno realizovao postavljene ciljeve istraživanja, da je doktorska disertacija originalan naučni rad i da ima značajan naučni doprinos na polju izučavanja endokrinih spona između kosti i mehanizama koji učestvuju u homeostazi glukoze i energetskom metabolizmu u normalnoj trudnoći. Ovi podaci će moći da se koriste u proceni stanja trudnica i predviđanju eventualnih komplikacija u trudnoći.

Komisija stoga predlaže Nastavno-naučnom veću Farmaceutskog fakulteta Univerziteta u Beogradu da prihvati ovaj Izveštaj i uputi ga Veću naučnih oblasti medicinskih nauka, radi dobijanja saglasnosti za javnu odbranu doktorske disertacije prijavljene pod naslovom **"Longitudinalne promene parametara za procenu insulinske rezistencije, adipocitokina i markera formiranja kostiju kod zdravih negojaznih trudnica"**, kandidata dipl.farm.-med.biohemičara Marine Pijanović, specijaliste medicinske biohemije.

Članovi komisije:

1. Dr Slavica Spasic, profesor emeritus (mentor)

Univerzitet u Beogradu - Farmaceutski fakultet

2. Dr Aleksandra Stefanović, docent (mentor)

Univerzitet u Beogradu - Farmaceutski fakultet

3. Dr Dušica Pavlović, redovni profesor

Medicinski fakultet, Univerzitet u Nišu