УНИВЕРЗИТЕТ У КРАГУЈЕВЦУ
ФАКУЛТЕТ МЕДИЦИНСКИХ НАУКА

др Весна Алексић Величковић

ЗНАЧАЈ, УЛОГА И ПРОФИЛ ПОЛИНЕЗАСИЋЕНИХ МАСНИХ КИСЕЛИНА (ПУФА) У ПРЕЕКЛАМПСИЈИ

докторска дисертација

Ментор: Проф. др Милица Берисавац

Крагујевац, 2012

Докторска дисертација реализована је у Клиници за гинекологију и акушерство Клиничког центра Србије и у Центру изузетних вредности у области истраживања исхране и метаболизма Института за медицинска истраживања Универзитета у Београду у оквиру рада на пројекту „Биолошки механизми, нутритивни унос и статус полинезасићених масних киселина и фолата: унапређење исхране у Србији" (ИИИ 41030) које финансира Министарство просвете, науке и технолошког развоја Републике Србије.

Све аналитичке и биохемијске анализе урађене су у лабораторијама КГА КЦС и Института за медицинска истраживања.

Клиничка студија не би могла бити реализована без свесрдне подршке мени драгих људи, па зато желим да им се најдубље захвалим.

Проф. др Милици Берисавац, стручном руководиоцу дисертације, на изузетној помоћи и драгоценим саветима који су ми помогли да студију усмерим правом циљу.

Др Марији Глибетић, научном саветнику ИМИ, која ме је увела у област масних киселина и подстакла на истраживачки рад значаја, улоге и профила ПУФА, на подршци, организацији, пажњи и координацији са којом је пратила израду студије.

Др Весни Вучић, вишем научном сараднику ИМИ, на помоћи при финалној изради докторске дисертације јер су њена искуства и сугестије допринеле да ова дисертација добије на валидности приказаног истраживачког рада.

Члановима комисије Проф др Мирјани Варјачић и Проф Др Александру Живановићу на сугестијама и подршци у финалној изради тезе.

Захваљујем се свим сарадницима Центра изузетних вредности за истраживање исхране и метаболизма, а посебно мр Александри Конић-Ристић у извођењу експерименталног дела рада на одређивању параметара антиоксидативне заштите, мр Марији Такић, дипл. фарм. Марији Ђекић-Иванковић, мр Александри Арсић, дипл. биол. Јасмини Дебељак Мартачић и дипл. мат. Марини Николић на стручној сарадњи и драгоценој помоћи.

Посебну захвалност дугујем свом супругу, Прим др Слободану Величковићу на несебичној подршци, стрпљењу и разумевању које се ретко среће.

МОЈОЈ ПОРОДИЦИ

I Аутор

Име и презиме: Весна Алексић-Величковић

Датум и место рођења: 11.11.1966. године, Краљево, Република Србија

Садашње запослење: специјалиста гинекологије и акушерства, Клиника за гинекологију и акушерство КЦС –Београд

II Докторска дисертација

Наслов: Значај, улога и профил полинезасићених масних киселина (ПУФА) у прееклампсији

Број страница: 144

Број табела: 33

Број графикона: 21

Број библиографских података: 144

Установа и место где је рад израђен: Клиника за гинекологију и акушерство КЦС Београд , Институт за медицинска истраживања-Центар изврсности за метаболизам и исхрану Универитета у Београду

Научна област : Медицина – Хумана репродукција и развој

Ментор: Проф. др Милица Берисавац

III Оцена и одбрана

Датум пријаве теме: 07.02.2011. године

Број одлуке и датум прихватања докторске дисертације: 1050/20 07.07.2011. године

Комисија за оцену подобности теме и кандидата:

Проф. др Мирјана Варјачић, редовни професор Факултета медицинских наука у Крагујевцу за ужу научну област Гинекологија и акушерство, председник комисије

Проф. др Александар Живановић, редовни професор Факултета медицинских наука у Крагујевцу за ужу научну област Гинекологија и акушерство, члан

Проф. Милица Берисавац, ванредни професор Медицинског факултета у Београду за ужу научну област Гинекологија и акушерство, члан

Комисија за оцену докторске дисертације:

Проф. др Мирјана Варјачић, редовни професор Факултета медицинских наука у Крагујевцу за ужу научну област Гинекологија и акушерство, председник комисије

Проф. др Александар Живановић, редовни професор Факултета медицинских наука у Крагујевцу за ужу научну област Гинекологија и акушерство, члан

ВНС Весна Вучић, Институт за медицинска истраживања Универзитета у Београду, члан

Комисија за одбрану докторске дисертације:

Проф. др Мирјана Варјачић, редовни професор Факултета медицинских наука у Крагујевцу за ужу научну област Гинекологија и акушерство, председник комисије

Проф. др Александар Живановић, редовни професор Факултета медицинских наука у Крагујевцу за ужу научну област Гинекологија и акушерство, члан

ВНС Весна Вучић, Институт за медицинска истраживања Универзитета у Београду, члан

САДРЖАЈ

I УВОД 9

1.1 Прееклампсија 9

1.1.1. Механизам настанка **..... 9**

1.1.2. Узроци настанка **..... 10**

1.1.3. Оксидативни стрес и антиоксидативна заштита у нормалној трудноћи и прееклампсији **..... 12**

1.1.4. Значај исхране као фактор настанка **..... 15**

1.2.Фосфолипиди 16

1.2.1. Дефиниција и класификација **..... 16**

1. 2.2. Биолошки значај фосфолипида **..... 17**

1.3. Масне киселине 19

1.3.1. Номенклатура и класификација **..... 19**

1.3.2. Путеви синтезе масних киселина **..... 23**

1.3.3. Путеви разградње масних киселина **..... 25**

1.3.4. Биолошки значај масних киселина **..... 26**

1.3.5. Биолошки значај засићених масних киселина **..... 26**

1.3.6. Биолошки значај монозасићених масних киселина **..... 27**

1.3.7. Биолошки значај полинезасићених масних киселина **..... 28**

1.4. Исхрана 31

1.4.1. Планирање и препоруке СЗО **..... 31**

1.4.2. Савремена исхрана **..... 33**

1.4.3. Нутритивна епидемиологија **..... 34**

1.4.4. Праћење масних киселина као биомаркера дијетног уноса **..... 34**

II ЦИЉ **.....37**

III Материјал и методе **.....39**

3.1. Испитаници.....39

3.2. Дијетарни унос 40

3.2.1. Карактеристике, поузданост и ограничења коришћене методе у процени уноса намирница**.....40**

3.2.2. База података у саставу намирница **.....41**

3.3. Анализа масних киселина (или аналитичке методе) 46

3.3.1. Анализа маснокиселинског профила фосфолипида еритроцита гасно-течном хроматографијом **.....46**

3.3.2. Екстракција укупних липида еритроцита **.....46**

3.3.3. Раздвајање липидних класа TLC хроматографијом **.....47**

3.3.4. Метиловање масних киселина**.....48**

3.3.5. Анализа масних киселина гасно-течном хроматографијом **.....48**

3.4. Анализа активности антиоксидативних ензима у хемолизату еритроцита испитаника.....50

3.4.1 Анализа активности супероксид-дизмутазе**.....50**

3.4.2. Анализа активности каталазе**.....50**

3.5. Испитивање утицаја рибљег уља на преживљавање EA.hy926 ћелија третираних водоник пероксидом- ***ин витро*** **..... *52***

3.5.1. Материјал и ћелијска култура**.....52**

3.5.2. Одређивање преживљавања ћелија –MTT тест **.....54**

3.6. Спектрофотометријско одређивање концентрације нитрита у плазми 56

3.7. Статистички метод обраде резултата 57

IV Резултати **.....60**

V ДИСКУСИЈА **.....102**

VI ЗАКЉУЧАК **.....115**

VII СПИСАК СКРАЋЕНИЦА **.....118**

VIII ЛИТЕРАТУРА **.....120**

КЉУЧНА ДОКУМЕНТАЦИЈСКА ИНФОРМАТИКА **.....132**

KEJ WORDS DOKUMENTATION **.....136**

БИОГРАФИЈА АУТОРА **.....140**

I УВОД

1. УВОД

1.1 Прееклампсија

1.1.1. Механизам настанка

Прееклампсија је синдром непознате етиологије који подразумева мултисистемски поремећај у организму. Често се за прееклампсију каже да је обољење које се не може спречити ни излечити, али се може контролисати, успорити његова еволуција и спречити компликације. На тај начин се штетне последице на мајку и плод своде на минимум. Тачна инциденца прееклампсије није позната. Болест се може појавити без упозорења, у било ком периоду трудноће, (најчешће после 20 недеље гестације), порођаја или у постпарталном периоду са различитом клиничком сликом која варира од минималног повећања крвног притиска, едема и протеинурије до драматичног погоршања болести угрожавања функције бубрега, јетре и мозга и хематолошких поремећаја (1). Поред наведених главних симптома карактеристичних за прееклампсију, може доћи и до наглог пораста телесне масе, поремећаја вида, мучнине и/или повраћања, бола у епигастријуму и олигурије. Прееклампсија је компликација која се може јавити у 5%-8% свих трудноћа и значајно утиче на повећану стопу перинаталног морбидитета и морталитет (2). Као узроци повишеног морбидитета у литератури се најчешће наводе: неефикасна превентива, касно постављање дијагнозе, појава компликација (еклампсија, дисеминована интраваскуларна коагулација, Haemolysis-Elevated Liver Enzymes-Low Platelates (HELLP), акутна бубрежна инсуфицијенција), као и некритична политерапија која може довести до "предозирања" течностима, депресије централног нервног система и до поремећаја фактора коагулације (3). Удружена је са слабим хорионско вилозним развојем и каснијом фетоплацентном ангиогенезом, што може довести до застоја у расту плода. Патогенеза прееклампсије није још увек позната, а у многим истраживањима помињу се генетски, имунолошки или дијетарни фактор (4).

У организму жене у прееклампсији постоји генерализована дисфункција ендотелних ћелија. У ендотелној ћелији постоји група вазоконстрикторних и група вазодилататорних фактора који утичу на метаболизам тромбоцита. У оштећеној

ендотелној ћелији долази до преваге вазоконстрикторних фактора који доводе до агрегације тромбоцита и до сужења лумена крвног суда, те стварања микротромба и тромба (5). Услед интаваскуларне инфламаторне маладаптације долази до развоја оксидативног стреса (липидни пероксиди и токсични радикали) и оштећења ендотела, под дејством азот пероксида, простациклина и тромбоксана А2. Овај инфламаторни одговор покреће продукцију макрофага што доводи до активације микроваскуларне коагулације која узрокује тромбоцитопенију и дисрупцију ендотела што се клинички манифестује појавом едема, хипервискозношћу и протеинуријом. Као крајња последица наступа декомпензација генерализованог интраваскуларног инфламаторног одговора што се може доказати променама у лабораторијским анализама: леукоцити, Ц-реактивни протеин (C reactive protein-CRP), тестови хемостазе (6).

1.1.2. Узроци настанка

У патогенези прееклампсије често доминира:

1. генерализовани вазоспазам,
2. ренално депоновање фибрина,
3. екстраренално депоновање фибрина.

Од предоминације поменутих патофизиолошких механизама или њихове комбинације, зависи тежина клиничке слике, степен компликација и перинатални исход.

Прееклампсија је карактерисана непотпуном плацентном ангиогенезом и материналном васкуларно-ендотелном дисфункцијом (7).

Смањење броја и процес старења ендотелијалних прогенитор ћелија (endothelial progenitor cells - EPC) запажа се у материналној циркулацији у прееклампсији. Узимајући у обзир значај EPC у васкуларној хомеостази може се претпоставити да је поремећај у EPC битан фактор у васкулопатији. Одређивање броја, функционалног потенцијала и процеса старења феталних EPC у трудноћама компликованим хипертензијом, који су условљени или системским одговором на прееклампсију или експресијом фактора 1 стромалних ћелија (stromal cell-derived factor-1) која је стимулисана ткивном хипоксијом или пак продукцијом антиангиогеничног пептида из плаценте је од великог значаја у могућем

одређивању механизама који су укључени у редукцију ЕРС у прееклампсији и на које би се можда могло терапијски деловати (8).

Први поремећај који започиње читав патолошки процес лежи у ћелијама инвазивног цитотрофобласта које имају смањен инвазивни потенцијал код прееклампсије. Код материчних и постељичних крвих судова у лумену су нађене бројне ћелије трофобласта. Артерије спиралис су дуже и задржавају изразито спиралан ток, дебео мишићни зид и због вазоконстрикције мали промер који се смањи и до 60%, а отпор струјању крви повећа и до 40 пута. Овај процес узрокује децидуалну артериолопатију и атеросклерозу, фибриноидну некрозу и тромбозу спиралних артерија у постељици, гломерулима бубрега и у јетри. Због наведених промена, постељица код прееклампсије је промењеног изгледа, обично смањене тежине са мултиплим инфарктима који могу захватити и до 60% постељичног ткива (9).

Степен угрожености фетуса је у корелацији са наведеним патохистолошким проеменама у постељици. Доказано је да труднице са мушким кариотипом плода испољавају тежу клиничку слику
прееклампсије.

Као фактори ризика за развој прееклампсије наводе се: (10)

- Преегзистента хипертензија
- Болести бубрега
- Старосне доби (млађе од 20 и старије од 40 година)
- Првортке
- Мултипла трудноћа
- Шећерна болест
- Тромбофилије
- Гојазност

1.1.3 Оксидативни стрес и антиоксидативна заштита у нормалној трудноћи и прееклампсији

Кисеоник је један од кључних молекула за одржање живота. Међутим, у специфичним условима из кисеоника настају нестабилни и веома реактивни молекули-реактивне врсте кисеоника (RVK). У физиолошким условима, RVK су основа одбрамбеног механизма имунских ћелија и сигнални молекули у процесима преживљавања, пролиферације и ћелијске смрти, фундаменталним за функционисање сваке ћелије. Истовремено, као високо реактивни молекули, ова једињења ступају у реакције са другим органским молекулима, пре свега протеинима, липидима и нуклеинским киселинама, мењајући њихову структуру и функцију и доводећи до оштећења биолошких система. Овакво деловање нарочито је изражено уколико природни антиоксидативни механизми нису у стању да се супротставе реактивности ових једињења.

Реактивне врсте кисеоника присутне у ћелијама и њихова контрола деловањем антиоксиданаса има веома важну улогу у физиологији репродуктивног система. У физиолошким условима ова једињења преко низа путева преноса сигнала учествују у регулацији фоликулогенезе, сазревања ооцита, жутог тела и нормалне функцији материце. Истовремено укључена су и у процес ембриогенезе, имплантације ембриона и фетоплацентални развој (11). Њихова физиолошка улога у биологији плаценте је вишеструка. Формирају се у децидуалним ћелијама, трофобластима и мезенхималним ћелијама, тачније на местима додира организама мајке и плода. С обзиром да се у физиолошким условима стварају у релативно ниским количинама, RVK у ћелијама плаценте, као сигнални молекули, учествују у регулацији активности транскрипционих фактора остељивих на оксидативни статус ћелије и бројних протеинских киназа, укључених у преживљавање ћелија, пролиферацију и апоптозу. Стварање RVK у физиолошким условима повезано је такође и са одбрамбеним механизмима плаценте, као што су фагоцитоза и микробицидно деловање. Ћелије које су директно повезане са продукцијом RVK у плаценти су пре свега џиновски трофобласти, као ћелије које посредују у свим односима између плода и организма мајке.

RVK у овим ћелијама, као и у другим ћелијама људског организма, последица су активности различитих ензима: ксантин оксидазе, ензима митохондријалног

респираторног ланца, ензима укључених у метаболизам арахидонске киселине, оксидазе редукованог никотинамид-динуклеотид фосфата (NADPH) или синтетазе азот моноксида (NOS eng. Nitric oxide synthase) .

Основни извор супероксидног анјона у биолошким системима представља ензимски комплекс NADPH оксидазе.Присуство овог ензимског комплекса у цитотрофобластима и матичним артеријама вила у раном гестационом периоду доводи до стварања веће количине супероксидног анјона у односу на плаценту на крају гестације (12). Физиолошка улога повећаног нивоа супероксидног анјона у раној гестацији је учешће у ћелијској диференцијацији, ремоделовању и ангиогенези (13). Повећана активност плацентарне NADPH оксидазе праћена је појачавањем ефикасне антиоксидативне заштите, што иде у прилог хипотези да поремећаји на нивоу продукције антиоксиданаса могу бити узрок побачаја у раној трудноћи (14). Улогу у фагоцитози потврђује и драстично повећање дистрибуције овог ензима у хуманој феталној мембрани - хорионским трофобластима у стању инфламације у односу на нормалну постељицу истог гестационог периода (15), указујући на његову улогу да заштити хориоамнион од инфекције.

За нормално функционисање организма труднице неопходно је да постоји баланс између физиолошког и функционалног повећања продукције реактивних врста кисеоника и оптималне функције система антиоксидативне заштите.

Оксидативни стрес као фактор дисфункције ендотела у ћелијама настаје као резултат дејства најмање једног од три фактора:

- Повећано стварање слободних радикала,
- Смањена антиоксидативна заштита,
- Немогућност поправљања оштећења насталог оксидативним процесом.

Као резултат повећаног стварања слободних радикала, и других реактивних врста кисеоника и азота, у васкуларним структурама долази до смањења дилатације зависно од ендотела и то доводи до поремећаја перфузије, артеријске хипертензије, индукције апоптозе, индукције целуларног оштећења и инфламације и до активирања нормално неактивног ендотела који почиње да привлачи леукоците. Индуктори оксидативног стреса могу бити фактори спољашње средине, механички стрес на зид крвног суда, тромбоцитни

фактор раста (енг. PDGF-plateled derived growth factor), ангиотензин 2 и липопротеини ниске густине (16).

Ц реактивни протеин (CRP) је први, главни акутни фазни протеин и представља веома сензитивни системски маркер за инфламацијске процесе и оштећење ткива (17, 18).

Азот моноксид (NO) је биолошки медијатор који се синтетише из Л-аргинина под дејством ензима азот моноксид синтетазе. Продукују га различити типови ћелија и има улогу регулацији физиолошких и патолошких процеса. NO је важан дилататор крвних судова који инхибира полиферацију васкуларних глатких мишићних ћелија као и агрегацију тромбоцита и на тај начин показује антиатерогена својства. Губитак биоактивности NO повезан је са поремећајима кардиоваскуларног система.Истраживања су показала да ендотелни азот моноксид има улогу у регулацији васкуларне резистенције како у току нормалне трудноће тако и у прееклампсији (19, 20).

Антиоксидативну заштиту организма чине неензимски и ензимски антиоксиданси. У неензимске оксидансе спадају: антиоксиданси који се синтетишу у људском организму (глутатион, мокраћна киселина, билирубин, протеини који везују гвожђе и бакар), Анти-оксидативни витамини (витамини Ц и Е, коензим Q_{10}), микроелементи (бакар, цинк, манган и селен) и полифеноли као најзначајнији ненутритивни састојци хране са антиоксидативним деловањем. Ензимски систем антиоксидативне заштите организма чине: супероксид дизмутаза, каталаза, глутатион-пероксидаза, глутатион-редуктазе и трансферазе, тиол-дисулфид оксидоредуктазе и пероксиредоксини.

Супероксид дизмутаза (SOD) је металоензим присутан у свим еукариотским ћелијама. Овај ензим катализује дисмутацију супероксидних анјона до водоник пероксида и молекуларног кисеоника.

$$O_2^{-\cdot} + O_2^{-\cdot} + 2H^+ \rightarrow H_2O_2 + O_2$$

Поред реакције са макромолекулима у организму супероксидни анјон ступа у реакцију са азот моноксидом при чему настаје токсичан пероксинитритни анјон ($OHOO^-$).

$$O_2^{-\cdot} + NO^{\cdot} \rightarrow ONOO^-$$

Реакцијом између $O_2^{-\cdot}$ и $NO^{\cdot}$ не долази само до губитка активности NO, већ и до настанка пероксинитритног анјона који активно учествује у липидној пероксидацији и

оштећењу мембране крвног суда. Кључна улога SOD је да заштити NO синтетисан од стране ендотелних ћелија.

Ниво водоник-пероксида насталог у реакцији катализованој супероксид-дизмутазом контролисан је активношћу два ензима: каталазом и глутатион-пероксидазом. Каталаза директно разграђује H_2O_2 до воде и молекулског кисеоника:

$$2\ H_2O_2 \rightarrow 2\ H_2O + O_2$$

Поремећај баланса између антиоксиданаса и продукције реактивних врста кисеоника (оксидативног стреса) сматра се једним од узрока различитих патолошких стања репродуктивног система (21).

Оксидативни стрес представља један од могућих узрочника поремећаја везаних за трудноћу као што су ресорпција ембриона, учестали побачаји, прееклампсија, интраутерина рестрикција раста и смрт фетуса (22).У плаценти је укључен у етиопатогенезу прееклампсије (23). Плацентални стрес има улогу у липидној пероксидацији, као резултат реакције реактивних врста кисеоника са полинезасићеним масним киселинама у ћелијској мембрани и липопротеинима плазме. Повећани ниво липидних пероксида повезан је узрочно и/или последично са смањењем неензимских и ензимских антиоксиданаса.

Бројна истраживања указују да поремећај антиоксидативне активности ензима и смањење нивоа директних антиоксиданаса представља један од потенцијалних узрока повећане липидне пероксидације код трудница са прееклампсијом што може довести до оштећења васкуларног ендотела и манифестација симптома овог поремећаја. Модулација система антиоксидативне заштите дијетарним интервенцијама или побољшањем стила живота пре трудноће и у раној трудноћи представља један од предложених стратегија за смањење могућих компликација везаних за трудноћу (24).

1.1.4. Значај исхране као фактор настанка

Последњих година у бројним епидемиолошким истрживањима, истиче се значај нутритивних фактора у патогенези прееклампсије. У нашем поднебљу где и даље доминира сезонски тип исхране, примећује се неправилна исхрана трудница, недовољан

унос минерала, витамина (Е, Ц и бета каротен), свежег воћа и поврћа богатог антиоксидансима чиме се објашњава повећана учесталост прееклампсије, посебно у зимском периоду (25,26).

1.2. Фосфолипиди

1.2.1. Дефиниција и класификација

Фосфолипиди су сложени липиди, значајни структурни и функционални чиниоци липопротеинских честица у плазми. Молекул фосфолипида састоји се из алкохола (глицерола или сфингозина), масних киселина, фосфорне киселине и азотне базе.

Фосфолипиди се деле у две велике групе зависно од врсте алкохола који садрже (27,28)

-глицерофосфолипиде (садрже глицерол)

- сфингофосфолипиде (садрже сфингозин)

Фосфолипиди су поларни молекули. Њихов поларни (хидрофилни) део је фосфатни естар, а неполарни (хидрофобни) део представљају масне киселине и алкохол. Оваква природа омогућава стварање фосфолипидног двослоја у ћелијским мембранама и фосфолипидног омотача на површини липопротеинских честица. Хидрофилни пол фосфолипида окренут је ка воденом миљеу, а хидрофобни маснокиселински реп ка неполарној унутрашњости двослоја (27,29). Сваки фосфолипид има одређено наелектрисање које зависи од природе поларних група и њихове јонизације те се деле на:

-неутралне фосфолипиде (фосфатидилихолин, фосфатидилетаноламин, сфингофосфолипиди и лизофосфатидилихолин),

-киселе фосфолипиде (фосфатидилнозитол, фосфатидилсерин, кардиолипин тј дифосфатидилглицерол нађен само у митохондријама, бис(моноацилглицерол) фосфат нађен само у лизозомима (30).

1.2.2. Биолошки значај фосфолипида

Фосфолипиди као структурни матрикс ћелијских мембрана, омогућавају одржавање њеног интегритета као и низ дугих важних функција (31):

1) Флуидност и пропустљивост мембране - флуидност мембране одређена је дужином, незасићеношћу и просторном изомеријом полинезасићених масних киселина (polyunsaturated fatty acid - PUFA) које улазе у састав фосфолипида (32,33).Хомеостатски механизми за одржавање сталног нивоа флуидности мембране су ефикасни, а немогућност ових механизама да одрже флуидност мембране мења њену функцију на штету организма што је у основи механизама нутритивно базираних болести.
2) Регулација активности мембранских ензима (аденилциклазе, 5-нуклеозидазе, натријум, калијум АТР-азе). Утврђено је да се синтеза триглицерида у ћелији разликује у зависности од маснокиселинског профила мембрана. Повећана заступљеност n-3 масних киселина инхибира синтезу триглицерида. Заступљеност PUFA у мембрани повећава активност ензима (Na+, K+ATPаза) и утиче на H+ транспорт у митохондријама што би могло представљати механизам којим промене маснокиселинског профила утичу на метаболичку активност (33,34).
3) Пренос сигнала хормона и цитокина,
4) Инфлукс калцијума,
5) Супстрати су за метилтрансферазе,
6) Прекурсори су простагландина,
7) Фосфолипиди као структурна компонента липопротеина имају незаменљиву улогу у транспорту и метаоболизму липида.

Све ове функције фосфолипида заснивају се на својству да могу прећи из гел стања (у коме су чврсто упаковани) у сол стање (течно кристално), које условљава њихову велику мобилност-латералну дуфузију, ротацију око своје осе и кретање између спољашњег и унутрашњег слоја на тзв транзиционој температури што се назива флип-флоп механизам. Транзициона температура фосфолипида је у функцији њихових

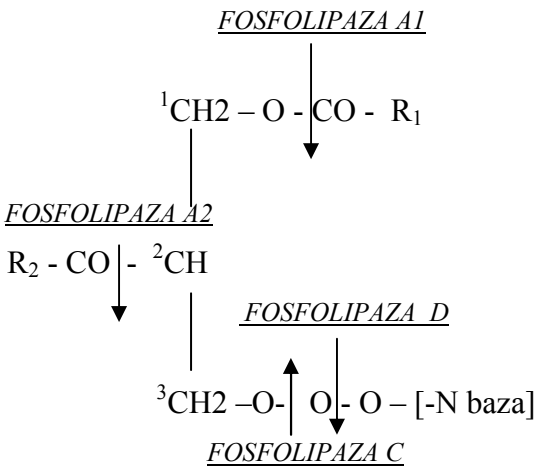
поларних група, дужине угљоводониковог ланца масних киселина и њихове незасићености, као и садржаја холестерола у мембрани (35).

Холестерол је присутан у плазма мембрани еукариотских ћелија у количинама еквимоларним свим мембранским фосфолипидима, а његова основна улога је контрола флуидности мембрана. Контролу остварује улегањем у ланце масних киселина фосфолипида и онемогућава њихову кристализацију на ниским температурама, а стерички омета велике покрете ланаца масних киселина смањујући тако флуидност. Одржавање мембране у получврстом стању је најважније за одржавање несметаног трансмембранског транспорта (36).

Метаболизам фосфолипида је динамичан процес синтезе, обнављања и разградње мембрана. У биосинтези фосфатидилхолина (phosphatidilecholin- PC) и фосфатидил-етаноламина (phosphatidile-ethanolamine-PE), фосфатидилинозитола (phosphatidile inositole-PI) улогу има цитидинтрифосфат (citidine three phosphate-CTP) једињење богато енергијом. CTP у реакцији са холином, етаноламином односно фосфатидном киселином доводи до стварања CDP-холина, CDP-етаноламина, или CDP диацилглицерола. Из CDP-холина и CDP-CDP-етаноламина у реакцији са 1, 2-диацилглицеролом (DAG) настају PC односно PE. У реакцији CDP-диацилглицерола и инозитола ствара се PI. Фосфатидилсерин (PS) не настаје де ново, већ реакцијом измене базе неког фосфолипида и то најчешће PE и PC са слободним молекулима L-серина (ове реакције су реверзибилне) (30,37).

Фосфолипиди су асиметрично поређани у ћелијској мембрани. Кисели су постављени на унутрашњој страни мембране, а неутрални на спољашњој страни мембране и у сталној су динамичкој равнотежи са фосфолипидима серума. Зато је ниво фосфолипида серума и њихових фракција (фосфатидилхолина, фосфатидилетаноламина, сфингофосфолипида, и лизофосфатидилхолина) „огледало„ стања мембранских фосфолипида (30,38,37,39,35,36).

Катаболизам фосфолипида катализују ензими фосфолипазе, које се међусобно разликују по месту деловања (37,40), што је приказано на слици 1.



Слика 1.М***есто деловања фосфолипаза***

1.3. Масне киселине

Приликом развоја организма изузетно је важно обезбедити есенцијалне масне киселине (МК) ткивима која интензивно расту и за чији су развој оне неопходне.

Масне киселине састављене су од ланца угљеникових атома, а молекул им се увек завршава са COOH-карбоксилном групом. У природним липидима увек се налазе масне киселине са парним бројем угљеникових атома и монокарбоксилне.

1.3.1. Номенклатура и класификација

Масне киселине обележавају се према IUPAC модификованој номенклатури (International Union of Pure and Applied Chemistry) у виду двоструких симбола, тако да прва цифра означава број угљеникових атома, а друга цифра број двоструких веза.

Атоми угљеника се обележавају словима грчког алфабета или нумерички и то почев од C атома карбоксилне групе који носи број 1. Угљеник до карбоксилне групе означава се бројем 2, односно словом α и тако редом. Задњи атом C метил групе означава се увек са ω или латиничним словом 'n'.

На слици 2. је приказ опште формуле и приказ номенклатуре масних киселина

CH3-(CH2)n-COOH општа формула

n 4 3 2 1

CH3 (CH2)n CH2 CH2 COOH номенклатура масних киселина

Ω γ □ α

Слика 2. ***Шематски приказ хемијске грађе и номенклатуре масних киселина***

Масне киселине према броју С атома делимо на:

*кратколанчане - садрже 4 до 8 С атома

*средњеланчане - садрже од 8 до 12 С атома

*дуголанчане - садрже више од 12 С атома.

Међутим, у студијама исхране и статуса масних киселина у крви, под дуголанчаним масним киселинама се обично подразумевају оне које садрже 20 и више С атома (long chain polysaturated fatty acid, LC-PUFA).

Масне киселине према присуству односно одсуству двогубих веза у молекулу, а може бити од 0 до 6 таквих веза, делимо на:

*засићене (добијају наставак АНСКА)

*незасићене (добијају наставак ЕНСКА)

Незасићене МК према броју двогубих веза деле се на:

-мононезасићене (садрже само једну двогубу везу)

-полинезасићене (садрже од две до шест двогубих веза)

Према геометријској изомерији незасићене масне киселине се могу појавити у два облика:

-цис

-транс.

Конфигурација двогубих веза код незасићених МК у природи скоро увек је цис (41) и садрже од 18 до 24 С атома, а транс МК су присутне у производима у којима је вршена хидрогенизација уља као што је маргарин (41,43,44).

На флуидност мембране битно утичу дужина и степен незасићености ланаца масних киселина. У физиолошким условима масне киселине су у јонизованом облику (45,46).

У једној незасићеној масној киселини двогуба веза се може налазити на различитој удаљености од ω C атома односно на различитим положајима и према положају двогубе везе у молекулу све незасићене масне киселине од биолошког значаја подељене су на три фамилије:

*ω -3 или n-3

*ω-6 или n-6

*ω-9 или n-9

Обележавање МК врши се помоћу скраћених симбола, тако што прва цифра означава број C атома, друга цифра број двогубих веза, а потом се означава фамилија којој масна киселина припада (нпр. еручна киселина C 22:1 n-9).

У биолошким системима МК обично садрже паран број C атома и то најчешће од 14 до 24 C атома. Најзаступљеније су МК са 16 и 18 C атома. Код животиња ланац МК је неразгранат (46) а код полинезасићених МК двогубе везе су одвојене барем једном метиленском групом. (45,46).

МК се у организму налазе у два облика:

*неестерификоване или слободне (енгл. free fatty acids, FFA)

*естерификоване.

Само 5% МК се у циркулацији налази у слободном облику и транспортују се углавном реверзибилно везане за албумине (47). Концентрација дуголанчаних слободних МК у серуму у нормалним околностима је од 200 до 600 μмол/л, а до четири пута је већа у сепси, дијабетесу и малигним обољењима.

Естерификоване МК у људи чине 95% масних киселина у циркулацији и то у облику триглицерида (TG) 45%, фосфолипида (PL)-35%, холестерол естара (HOL) 15%, чији се транспорт обавља у крви путем липопротеина(48).

Табела 1. ***Најважније масне киселине у животињским мастима***

Назив масне киселине	**Номенклатура**
Засићене масне киселине /SFA/	
бутерна	C 4:0
капронска	C 6:0
каприлна	C 8:0
капринска	C 10:0
лауринска	C 12:0
мистинска	C 14:0
палмитинска	C 16:0
стеаринска	C 18:0
арахинска	C 20:0
бехенска	C 22:0
Мононезасићене масне киселине /MUFA/	
палмитолеинска	C 16:1 n-7
олеинска	C 18:1 n-9
гонадонска	C 20:1 n-9
еручна	C 22:1 n-9
Полинезасићене масне киселине/PUFA/	
Линолна /LA/	C 18:2 n-6
γ-линолеинска /γLNA или GLA/	C 18:3 n-6
α-линоленска /αLNA или ALA/	C 18:3 n-3
дихомо γ-линоленска /DHGLA/	C 20:3 n-6
еикосатриенска	C 20:3 n-9
арахидонска /AA/	C 20:4 n-6
еикосапентаенска /EPA/	C 20:5 n-3
докосатетраенска	C 22:4 n-6
докосапентаенска	C 22:5 n-6
докосахексанска /DHA/	C 22:6 n-3

Из: Лепшановић Л;Липиди и липопротеини (29)

1.3.2. Путеви синтезе масних киселина

У организму сисара постоји неколико начина синтезе масних киселина у зависности од тога да ли се врши „de novo“ синтеза или се врши продужавање ланаца већ постојећих МК.

„De novo“ синтеза- **липогенеза** масних киселина врши се у цитосолу ћелија више ткива, а нарочито јетре, бубрега, мозга, плућа, млечне жлезде и масног ткива. Ако постоји потреба за биосинтезеом МК са већим бојем С атома од 16, онда се продужавање масних киселина одвија у микросомима и митохондријама. Као почетни молекул и основни супстрат појављује се ацетил-Со А. Постоје три извора ацетил-Со А:

-разградњом аминокиселина настаје цитосолни ацетил-Со А,

-оксидација масних киселина производи ацетил-Со А,

-пируват настао гликолизом у цитосолу прелази у митохондрије и под дејством пируват дехидрогеназе преводи се у ацетил-Со А(42).

Ацетил-Со А настао из оксидације масних киселина и пирувата нема могућност проласка кроз митохондријалну мембрану и директног укључивања у биосинтезу МК. Зато се ацетил-Со А, у митохондријама, везује са оксалацетатом формирајући цитрат, који се транспортује из митохондријалног матрикса у цитосол. Деловањем АТР-цитратне липазе, из цитрата у цитосолу, поново настаје ацетил Со А. Под дејством ензима ацетил-Со А карбоксилазе из ацетил-Со А настаје малонил-Со А (44).

Сукцесивним понављањем процеса карбоксилације, редукције и дехидрације долази до елонгације ацил-остака уз утрошак NADPH до максималних 16 угљеникових атома тј. палмитоил Со А. Новонастали палмитоил Со А са своје стране делује инхибиторно на иницијални ензим ацетил-Со А карбоксилазу (42).

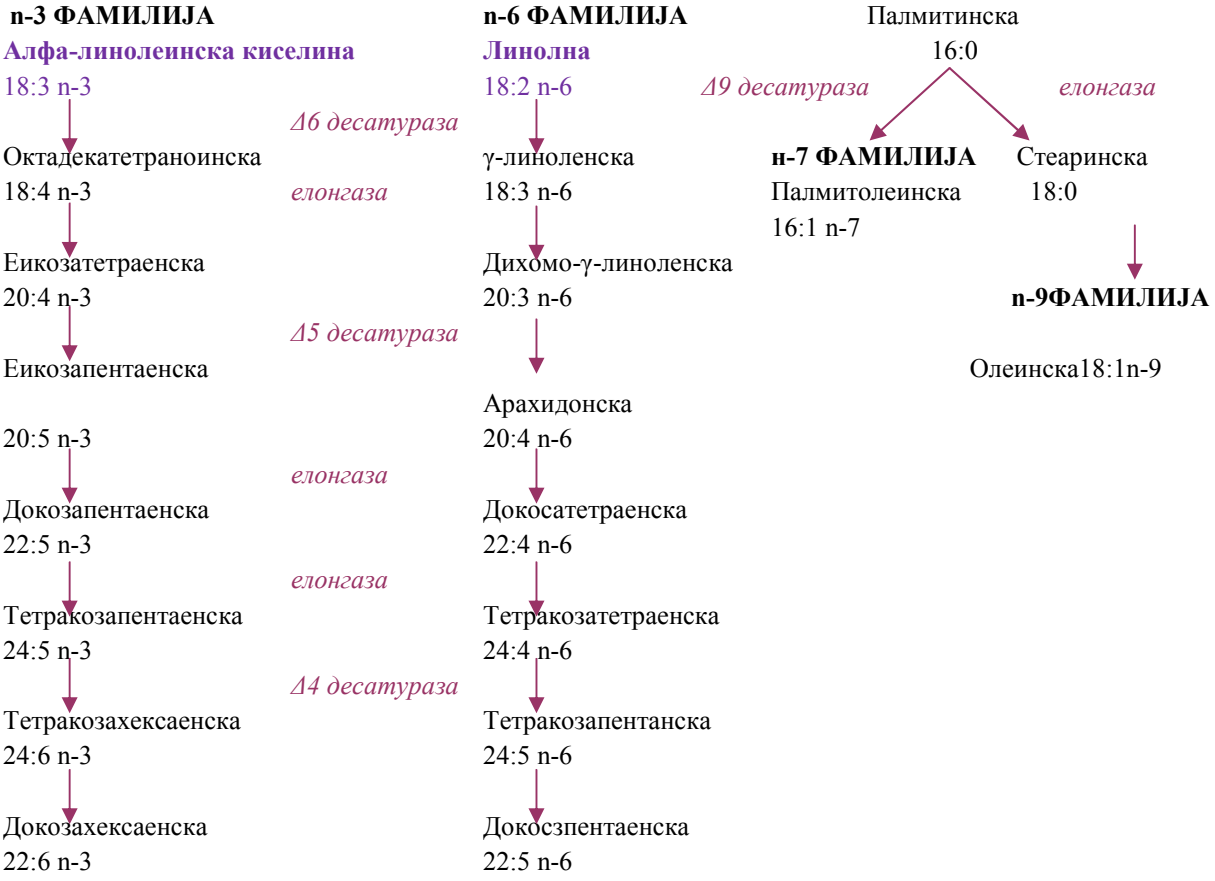
Синтеза у митохондријама –продужење ланца МК може се вршити и у митохондријама, али са ацил-Со А (дужине ланца С16-С20) не реагује малонил Со А, већ ацетил Со А. Ова реакција се врши обрнуто реакцијама бета-оксидације уз NADPH као донора водоника. Физиолошки значај овог пута који се одвија само у митохондријама није познат (43).

Синтеза у микросомима (ендоплазматском ретикулуму) јетре служи за даље продужавање постојећих ланаца масних киселина који мора имати минимум 10-14 С

атома. Да би ова синтеза била успешна неопходна је адекватна функција јетре и добар нутриционi статус (49). Елонгација МК је четворостепени процес. Прво се МК преводи у CoA једињење које потом реагује са малонил CoA и путем редукције, дехидрогенизације и поновне редукције долази до продужавања постојећег ланца. Иницијална реакција кондензације катализована је ензимом β-кетоацил-Со А синтаза (40).

У микрозомима се поред ових ензима налазе и комплексни системи десатураза које су одговорне за стварање двоструких веза у молекулима масних киселина. Постоје три типа десатураза у кичмењака Δ9, Δ6 и Δ5 десатураза које чине саставни део протеинског дела ендоплазматског ретикулума. Оне као супстрате користе МК у форми ацил Со А, како синтетисане у организму тако и оне унете храном. Под дејством десатураза настају МК фамилије n-3, n-6, n-9, метаболити палмитинске, линолне и α-линолеинске киселине (47).

МАСНЕ КИСЕЛНЕ



Слика 3. ***Схематски приказ елонгације и десатурације масних киселина***

Линолна (LA) и α-линолеинска киселина (ALA) су есенцијалне масне киселине-оне се у људском организму не могу синтетисати из прекурсора већ се морају унети храном.Ове две масне киселине су уједно и прекурсори за синтезу већине других масних киселина n-3 и n-6 серије.Наиме, кичмењаци немају Δ12 и Δ15 десатуразе одговорне за конверзију олеинске киселине (18:3 n-3) и зато нису у могућности да синтетишу ове две масне киселине *de novo* (42).

Десатурација линолне и α-линолеинске киселине (са по 18 C атома) дешава се под дејством Δ6 десатуразе, док је брзина десатурације МК са 20 C атома-дихомо-γ-линоленске и (20:3 n-6) и арахидонске киселине (20:4 n-6) одерђена активношћу Δ5 десатуразе (43).

Најновија истраживања указују на могућност постојања посебне Δ6 десатуразе, одговорне само за синтезу докозахексаенске киселине (DHA). Овај механизам подразумева да се синтеза DHA (22:6 n-3) одвија из 22:5 n-3 путем две сукцесивне елонгације, коју прате Δ6 десатурација 24:5n-3 у 24:6 n-3, а потом ретроконверзија до DHA (44,45).

1.3.3. Путеви разградње масних киселина

Масне киселине су релативно инертне, те је неопходан процес оксидативне фосфорилације да се оне преведу у тиоестре, који поседују висок потенцијал за пренос група. За овај процес неопходно је дејство ензима ацил-Co A синтетазе и утрошак ATP-a. Настали ацил-Co A је у равнотежи са другим једињењем богатим енергијом, а то је карнитин који има диполарну структуру која му омогућава лагани пролаз кроз мембрану. Карнитин служи као молекул транспортер приликом убацивања активираних масних киселина у митохондрије (42).

У **митохондријама** активирана масна киселина подлеже процесу β-оксидације. Неопходне су четири реакције у низу да би се разградио ланац на C2-јединице, активирану сирћетну киселину. Прво се дешава дехидрогенизација, потом хидратација, те поновна дехидрогенизација и коначно тиокласично цепање ланца. Активирана сирћетна киселина, ацетил-CoA, улази у циклус лимунске киселине.

У **микрозомима** се такође одвија процес β-оксидације, али на сасвим независтан начин и има другачију улогу у односу на онај који се одвија у митохондријама. У микрозомимима масне киселине не подлежу оксидативној фосфорилацији. Оне представљају главни извор ацетил (2C) јединица неопходних за синтезу сасвим нових масних киселина у процесу елонгације. Овај систем има важну улогу у обезбеђивању хомеостазе есенцијалних полинезасићених масних киселина у организму неопходних за синтезу мембранских липида (46).

1.3.4. Биолошки значај масних киселина

Масне киселине имају вишеструки биолошки значај и испољавају своје дејство на различите системе и органе.Засићене масне киселине имају цитопротективни ефекат, мононезасићене масне киселине имају кардиопротективна дејства, а полинезасићене масне киселине, посебно n-3 серије, имају значајан ефекат на раст и развој организма као и антиканцерогено дејство и кардиопротективно дејство (47). Садржај есенцијалних масних киселина у ткивима фетуса зависи од дијетарног уноса мајке, али и од одговарајућег транспорта кроз плаценту. Интензиван транспорт PUFA дешава се у последњем триместру трудноће када долази до значајне акумулације ових МК у мозгу и ретини фетуса (6).

1.3.5. Биолошки значај засићених масних киселина

Засићене масне киселине (енгл. SFA-Saturated fatty acids) могу бити кратколанчане, средњеланчане, и дуголанчане. У састав серумских и мембранских фосфолипида улазе само засићене масне киселине од 16 C и 18 C атома, али су биолошки значајне и кратколанчане масне киселине, нарочито бутерна киселина.

Засићене масне киселине могу различито утицати на здравље људи (48,49,50,51).

Бутерна киселина, дужине 4C атома, настаје ферментацијом хране богате влакнима под дејством цревних бактерија у дигестивном тракту. Још пре неколико деценија запажена је смањена инциденца карцинома колона код особа које су у својој исхрани користиле наведене намирнице, али је молекуларни основ овог дејства потврђен

пре неколико година (52) и потврђено позитивно дејство бутерне киселине на људско здравље (53).

Каприлна киселина дужине 8C атома и **капринска киселина** дужине 10C атома имају антивиралну активност (49) .

Лауринска киселина са 12C атома, осим антивиралне има и антибактеријску улогу, а такође може деловати и као агенс против каријеса (54).

Насупрот овим киселинама постоје киселине које имају негативан ефекат на здравље.

Палмитинска (C16:0) и стеаринска (C18:0) киселина која настаје елонгацијом палмитинске су дуголанчане засићене масне киселине. Овим киселинама су богате животињске масти и оне представљају основни супстрат за синтезу мононезасићених масних киселина (55, 47). Палмитинска киселина има негативан ефекат на здравље јер делује атерогено и тромбогено. Повећан унос палмитинске киселине доводи до повећања нивоа укупног и LDL холестерола што може довести до повећања телесне тежине, гојазности и срчаних обољења. (35). За стеаринску киселину се дуго сматрало да има једнако негативан ефекат на здравље као и палмитинска киселина. Међутим, нова истраживања не само што су оповргла штетне ефекте стеаринске киселине, већ су показала да ова масна киселина има изузетно кардио-протективно и антитуморско дејство (65). Просечан удео свих засићених масних киселина у фосфолипидима је 51,85%, а од тога палмитинска 35,18%, а стеаринска 16,22% и значајно варира у зависности од исхране (66).

1.3.6. Биолошки значај мононезасићених масних киселина

Мононезасићене масне киселине (eng. Monounsaturated fatty acids-MUFA) које се налазе уграђене у фосфолипиде организма су **палмитоолеинска киселина** (C16:1 n-7) која настаје из палмитинске киселине и **олеинска киселина** (C18:1 n-9) која настаје десатурацијом стеаринске киселине под дејством ензима Δ9 десатуразе тј. стеарил CoA десатуразе. У укупним фосфолипидима здраве особе олеинска киселина чини 8-12% зависно од исхране (10-12% у Медитеранским земљама, а у осталим 10%), док је удео палмитолеинске киселине свега нешто преко 1%.

Маслиново уље је главни извор мононезасићених масних киселина у исхрани. Преко 92% унетих MUFA храном чини олеинска киселина (68). У циркулацији се преноси везана за серум албумин, а преузимање MUFA врши се олакшаном дифузијом и пасивним флип-флоп механизмом (69).

Олеинска киселина има читав низ важних биолошких улога, а најбоље су испитана њена кардиопротективна дејства. Ова киселина утиче на промену састава липида у организму, смањује ниво укупног и LDL холестерола у организму. Узрокује и квантитативне промене у LDL честицама и чини их резистентнијим на оксидативну модификацију смањујући тако ниво оксидованог LDL. Оксидовани LDL има снажна хемотактичка својства према моноцитима и Т лимфоцитима. Ћелије моноцитно-макрофагне лозе по преузимању оксидованог LDL трансформишу се у пенасте ћелије, најважнији иницијални фактор у формирању атеросклеротског плака (68).

1.3.7. Биолошки значај полинезасићених масних киселина

Линолна киселина (LA;18:2 n-6) и α-линолеинска киселина (ALA;18:3 n-3) су есенцијалне масне киселине и прекурсори n-6 и n-3 полинезасићених масних киселина и зато се морају путем исхране унети у организам.

У недостатку есенцијалних масних киселина, интегритет, функција и транспорт кроз ћелијске мембране се ремети.

Линолна киселина је главни прекурсор за n-6 PUFA и главни њихов извор је у зеленом поврћу и биљним уљима (сунцокрет, соја, семе памука, лан, пшеница) Она снижава укупни и LDL холестерол када у исхрани замени засићене масти (70,71).

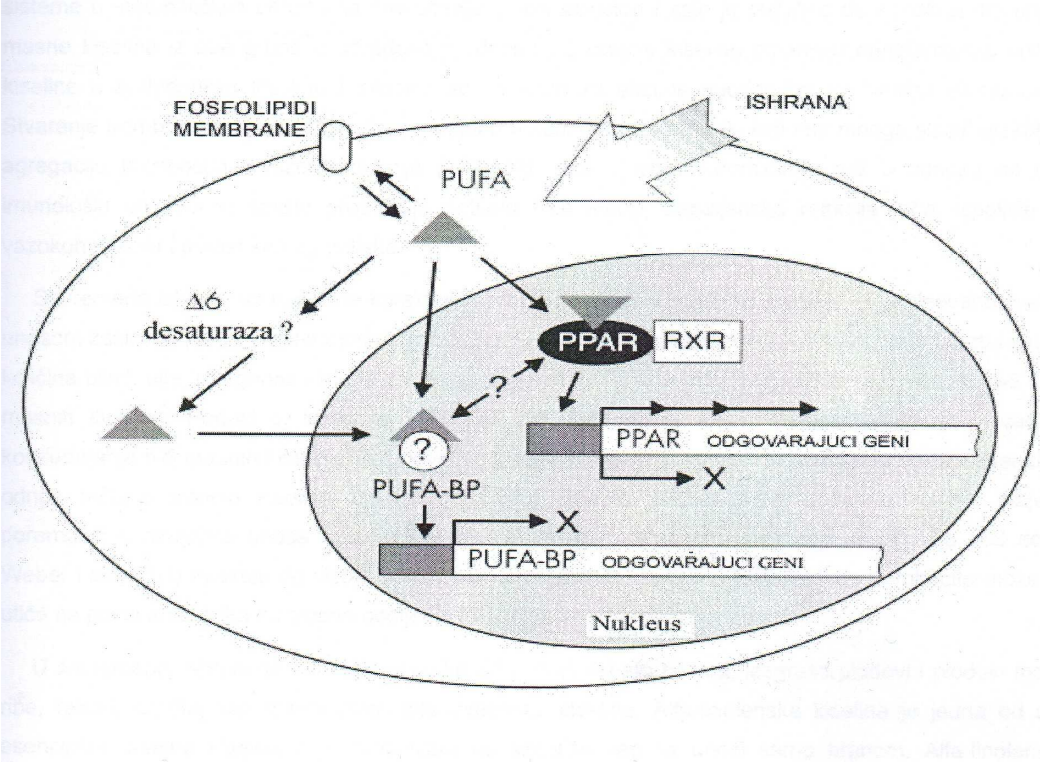
Алфа-линолеинска киселина је главни прекурсор за n-3 PUFA, а њихов главни извор су рибље уље и морски организми. Она отклања постпрандијалну липемију и инхибише синтезу триглицерида у јетри. Обе ове киселине подлежу процесима елонгације и десатурације и захваљујући посебном ензимском систему производе n-3 и n-6 дуголанчане масне киселине у организму. Произведене масне киселине могу имати и до 22 угљеникова атома.

Синтеза дуголончаних n-3 и n-6 масних киселина из LA и ALA одвија се у присуству истог ензимског система микрозомалних десатураза и елонгаза, при чему је Δ 6

десатураза контролни корак у овом процесу. Највећи афинитет Δ 6 десатураза има према ALA, а најмањи према олеинској киселини. То је разлог да се десатурација и елонгација н-9 PUFA дешава при комбинованом недостатку n-3 и n-6 PUFA. (56) Афинитет Δ-6 десатуразе опада од n-3> n-6> n-9. Људски организам је лимитиран у конверзији ALA до еикозапентаенске киселине (EPA) и DHA. Прекомерно уношење n-6 масних киселина може редуковати елонгацију и десатурацију ALA и тиме довести до недостатка n-3 масних киселина. Зато је избалансиран унос n-3 и n-6 масних киселина врло значајан за оптимални раст и развој. Дефицит n-3 PUFA обично доводи до метаболичког одговора компензаторне повећане продукције n-6 масних киселина и то посебно докозапентаенске киселине (DPA 22:5 n-6).

Највећи биолошки значај имају арахидонска киселина (AA; 20:4, n-6), EPA (20:5n-3) и DHA (22:6, n-3) (44, 72).

Дуголанчане PUFA своју биолошку улогу остварају поред директног дејства и преко својих оксидативних метаболита AA и EPA које су супстрати за циклооксигеназе (COX простагландин-ендопероксид синтазе, при чему настају простагландини, простациклини и тромбоксани) и липооксигеназе (LOX, при чему настају леукотријени и хидрокситетраеноичне киселине). Ови молекули утичу на бројне метаболичке процесе укључујући агрегацију тромбоцита, вазоконстрикцију крвних судова (73), инфламаторни одговор ткива и рану генску експресију (модулирају одговор ћелије на екстраћелијске сигнале, мењају транскрипцију, стабилност и mPHA) (74). Механизми дејства PUFA на генску регулацију приказани су на слици 4.



Слика 4**.** ***Улога PUFA у генској регулацији (73)***

У зависности од које фамилије PUFA (n-6 или n-3) потичу, масне киселине могу имати сасвим супротно дејство (75,76). То се посебно односи на AA (n-6) и EPA (n-3) које конкуришу за исте ензиме, прекурсори су за проинфламаторне (AA) и антиинфламаторне еикозаноиде (EPA).

Проспективне студије пресека показују да тренд повећаног уноса n-6 масних киселина може да утиче на патофизиолошка стања као што су подстицање згрушавања крви, повећање вискозности крви, настанак тромбозе, скраћење времена крварења, вазоспазам и вазоконстрикцију (77, 78).

С друге стране n-3 масне киселине имају повољно физиолошко деловање које остварују ефектима на нивоу синтезе еикозаноида из EPA:

-повећањем стварања PGI3 који спречава агрегацију тромбоцита и дилатира крвне судове, ендотелна површина постаје мање тромбогена;

-спречавањем формирања атерома (смањују количине фактора растења који луче тромбоцити, смањују производњу интерлеукина ИЛ-1β тумор некротичног фактора TNF-α;

-регулисањем крвног притиска (благо снижавају крвни притисак, ефекти на нивоу метаболизма еикозаноида уз могуће механизме утицаја на редукцију васкуларног одговора на системске вазоконстрикторе и смањење ренинске активности).

n-3 масне киселине имају антизапаљенска, антитромбогена, хиполипидемична и вазодилататорна својства.

Због супротних дејстава n-6 и n-3 масних киселина адекватан однос ових масних киселина у исхрани значајан је за прављење дијетних препорука (79, 80).

1.4. Исхрана

1.4.1. Планирање и препоруке Светске здравствене организације СЗО

Планирање правилне и добро избалансиране исхране има за циљ постизање адекватне енергетске вредности и структуре исхране појединца, а и популације која може унапредити здравље и спречити одређене болести.

Светска здравствена организација препоручује да унос масти не буде већи од 30% дневне потребне енергије. Полинезасићене масне киселине препоручују се од 6%-10% укупног дневног енергетског уноса и то:

-n-6 PUFA 5%-8% од укупно потребне дневне енергије

-n-3 PUFA 1%-2% од укупно потребне дневне енергије

Засићене масне киселине препоручују се < 10% дневне потребне енергије, а транс масне киселине < 1% дневне потребне енергије.

Мононезасићене масне киселине се различито препоручују у зависности од збира уноса осталих масних киселина (81)

Табела 2. ***Коначни популациони нутритивни циљеви СЗО***

Фактори исхране	**Циљеви**
Укупне масти	15-30 % укупне енергије
Засићене масне киселине	**< 10 %**
Полинезасићене масне киселине	**6-10 %**
n-6 полинезасићене масне киселине	5-8 %
n-3 полинезасићене масне киселине	1-2 %
Транс масне киселине	**< 1 %**
Мононезасићене масне киселине	Разлика*
Укупни угљени хидрати**	55-75 %
Слободни шећери***	< 10 %
Енергија	
Протеини	10-15 % укупне енергије****
Холестерол	< 300мг/дан
Со*****	< 5 г/дан; (< 2г/дан)
Воће и поврће	> 400 г/дан
Укупна дијетна влакна	> 25 г
Несварљиви полисахариди	> 20 г

*Мононезасићене масне киселине разлика (зависно од збира засићених, полинезасићених и транс МК)

**Проценат од укупне енергије користи се након прорачуна енергије која се користи из протеина и масти, има широк распон

***Термин «слободни шећери» односи се на све моно и дисахариде додане у храни приликом обраде, кувања или конзумирања, плус природан шећер који се налази у меду, сирупу и воћним соковима

****Предложени распон требало би погледати у публикацији «The Joint WHO/FAO/UNU Expert Consultation on Protein and Amino Acid Requirements inHuman Nutrition, held in Geneva from 9 to 16 april 2002.

*****Со треба бити јодирана

Храном унете одређене масне киселине имају знатан утицај на ниво холестерола у крви. Неадекватна исхрана доводи до поремећаја метаболизма липида и липопротеина (81).

Здрава и разноврсна исхрана има посебан значај и у периоду трудноће. Будућа мајка својом исхраном мора да обезбеди довољну количину енергије и микро и макро

нутријената како за своје уобичајене потребе тако и за потребе растућег фетуса. Треба да омогући и стварање залиха хранљивих материја у свом организму неопходних за развој плода.

Препоруке за исхрану трудница јако су сличне препорукама за одрасле индивидуе, али уз неколико важних изузетака. Основна препорука је да треба следити здраву и избалансирану исхрану засновану на моделу пирамиде здраве исхране препоручене од стране Светске здравствене организације. Конкретно труднице треба да конзумирају намирнице богате гвожђем, фолатима и масним киселинама.

Последњих година оптимални унос n-3 масних киселина постао је централно место у бројним научним истраживањима која указују на неопходне измене у досадашњем начину исхране. Исхрана богата n-3 и n-6 полинезасићеним масним киселинама има важну улогу у трудноћи и у самом порођају. Полинезасићене масне киселине су супстрат за простагландинску синтезу. Промене у саставу PUFA у серуму и ткивима могу имати вишеструке ефекте на синтезу важних биолошки активних молекула као и на саму функцију ткива укључујући и ендотел крвних судова.

1.4.2. Савремена исхрана

Савремена исхрана најчешће се карактерише малим уносом н-3 масних киселина, а појачаним уносом n-6 и транс масних киселина. Коришћење велике количине хране животињског порекла, маргарина и биљних уља довело је до дисбаланса у односу n-6 и n-3 масних киселина, али и до недопустиво високог уноса засићених и транс масних киселина.

Препоручени однос n-6/n-3 масних киселина је 2-4:1. Резултати истраживања последњих година указују да је овај однос драстично нарушен и да се у високоразвијеним земљама креће и до 20-30:1 (73,82).

Разлог је повећано конзумирање сунцокретовог, кукурузног и сојиног уља богатих n-6 масним киселинама. Највећи поремећај у равнотежи овог односа настао је престанком коришћења рибљег уља код деце. Данашњи начин исхране карактерише мали унос лиснатог зеленог поврћа, језграстог воћа и плодова мора (риба, ракова, шкољки) као главних извора есенцијалне α-линоленске киселине, која се дакле, мора уносити храном.

Она улази у структуру фосфолипида плазме у зависности од концентрације линолне n-6 киселине и има утицај на редистрибуцију есенцијалних масних киселина из плазме и еритроцита у остала ткива.

1.4.3. Нутритивна епидемиологија

Нутритивна епидемиологија представља област епидемиологије, базичне науке јавног здравља, која укључује истраживања из области:

-улоге исхране у етиологији болести;

-праћења нутритивног статуса популације;

-развоја и процене интервенције у циљу достизања нових навика у исхрани популације;

-испитивања односа и синергије између исхране и физичке активности у здрављу и болести.

Нутритивна епидемиологија укључује методолошки приступ одређивању везе између дијетарних фактора и резултата везаних за људско здравље.Мултидисциплинарни приступ је неопходан да би се оценио однос између појаве болести и дијете. При оцени улоге дијете у здравственом стању појединца потребно је ослонити се на експертизу широког спектра здравствених радника и оних који се баве исхраном (81).

1.4.4. Праћење масних киселина као биомаркера дијетног уноса

Адекватна процена уноса масних киселина није једноставан поступак. У бројним студијама покушано је на различите начине да се што прецизније одреди унос масних киселина путем хране. Једна од најчешћих и највалиднијих метода је анкета о учесталости узимања појединих намирница (semi–quantified food frequency questionnaire-FFQ). Да би процена уноса масних киселина била што прецизнија уз ову анкету се користи и одређивање количине разних масних киселина у фосфолипидима серума и еритроцита (83,84). У бројним студијама показано је да количина масних киселина у плазми и еритроцитима као и тромбоцитима осликава дијетни унос масних киселина (85,86).

Утврђено је и да на различитим поднебљима дијетни унос масних киселина је различит. Тако је он адекватнији у земљама Медитерана, него на подручју Балкана.

Степен корелације између масно киселинског састава фосфолипида серума и еритроцита и дијетног уноса варира у зависности од врсте масне киселине (87). Највиши степен корелације управо је код есенцијалних n-3 и n-6 масних киселина јер се оне не могу произвести у ћелијама организма већ се искључиво уносе путем исхране. За разлику од њих неесенцијалне масне киселине се синтетишу и у организму те је код њих степен корелације уноса и састава нижи (88).

Постоји и разлика у праћењу маснокиселинског састава плазме и еритроцита. Обзиром на брзу измену маснокиселинског састава плазме, много је поузданије пратити га у еритроцитима. Отуда се одређивање маснокиселинског профила еритроцита сматра најобјективнијим индексом за дијетни унос масних киселина за дужи период од неколико месеци (у нашој студији праћен је у периоду од три месеца) (89,90).

PUFA унете храном се интактне абсорбују из танког црева и уграђују у ћелијске мембране целог организма. Промене у њиховом уносу последично доводе и до промене у саставу ћелијске мембране, те тако могу променити и њену флуидност и утицати на функцију мембранских рецептора и ензима (32,33). На овај начин дијетарне масне киселине имају утицај на хуману физиологију. Масне киселине се уграђују у мембране еритроцита током еритропоезе или интерреакцијом већ формираних еритроцита са плазминим масним киселинама. Маснокиселински састав мембране еритроцита се измењује са масним киселинама фосфолипида плазме за временски период од око 8 до 12 дана (91). За многе масне киселине њихов састав у еритроцитима одговара њиховом саставу у мишићима. Зато је маснокиселински састав етритроцита важан и погодан биомаркер за праћење дијетног уноса масних киселина (92).

II ЦИЉ РАДА

2. ЦИЉ РАДА

Општи циљ: Испитивање уноса, статуса и улоге PUFA код трудница са прееклампсијом.

Сагласно општем циљу постављени су **следећи задаци**:

1. Одредити дијетарни унос масних киселина методом валидираних дијетарних анкета.
2. Анализирати профил полинезасићених масних киселина у еритроцитима трудница са прееклампсијом и упоредити га са профилом PUFA код нормотензивних трудница.
3. Испитати молекуларне механизме деловања и улоге PUFA у *in vitro* експерименталним условима.

III МАТЕРИЈАЛ И МЕТОДЕ

3. МАТЕРИЈАЛ И МЕТОДЕ

3.1. Испитаници

Истраживање је дизајнирано по типу проспективне студије која је изведена у Клиници за гинекологију и акушерство Клиничког центра Србије и у Центру изузетних вредности за истраживања исхране и метаболизма, Института за медицинска истраживања у Београду у периоду од 18. 12. 2010. године до 01.06. 2011. године.

У овој проспективној клиничкој студији узорачку групу сачињавало је 30 испитаница са прееклампсијом, а контролну групу 30 нормотензивних испитаница.

Критеријум за дефинисање прееклампсије био је вредност систолног притиска изнад 140 ммХг и дијастолног изнад 90 ммХг.

Критеријум за укључење у студију за испитанице са прееклампсијом били су следећи: прееклампсија, прворотка, гестациона старост између 29 НГ и 39 НГ, монофетална трудноћа, старосна доб до 35 година, непушач и претходно здрава испитаница.

Критеријум за укључење у студију за испитанице контролне групе били су: нормотензивна, прворотка, гестациона старост између 29 НГ и 39 НГ, монофетална трудноћа, старосна доб до 35 година, непушач и здрава испитаница (СЗО, стање потпуног физичког, менталног и социјалног благостања, а не само одсуство болести или слабости).
Критеријум за искључење из студије за обе групе биле су труднице са ендокриним, кардиоваскуларним обољењима и нефролошким обољењима и вишеплодна трудноћа, старосна доб изнад 35 година живота и као и жене пушачи цигарета..

Свим испитаницама по пријему у Клинику за гинекологију и акушерство КЦС узета је комплетна анамнеза, урађен комплетан гинеколошки и физикални преглед, ултразвучни преглед, констатован прираст телесне масе, лабораторијске анализе (комплетна крвна слика, проширена биохемија са липидним статусом, CRP) урин.

3.2. Дијетарни унос

3.2.1. Карактеристике, поузданост и ограничења коришћене методе у процени уноса намирница

Метода учесталости уноса намирница **- „Food frequency method“ (FFM)** се састоји из упитника који садржи листу намирница за коју учесник у студији треба да се изјасни о учесталости конзумирања и величине порције у току одређеног временског периода (нпр. последњег месеца, последња три месеца).

Упитник о учесталости конзумирања намирница **- „The Food Frequency Questionnaire (FFQ)“** је семи-квантитативна метода која се односи и на учесталост и на количину разних врста намирница и представља уобичајени метод за процену дијетарних навика у великим епидемиолошким студијама исхране и здравља. Предност „Food frequency method“ је у томе што је упитник стандардизован, није скуп метод и не утиче на навике у исхрани. Слабост метода је у томе што захтева присећање на конзумирану храну, квантификација хране није прецизна и често се заснива на затвореној листи намирница. Како би ове слабости свели на што мању меру, FFQ примењен у овој студији се односио на присећање конзумирања намирница у последња 3 месеца, а да би квантификација хране била што прецизнија упитник садржи фотографије са различитим величинама порција како би испитанику било што једноставније да процени сопствени унос дате намирнице (93). FFQ коришћен у нашој студији је прилагођен је нашем поднебљу састоји се из три дела и садржи 110 питања.

Први део представља општи упитник са 20 питања о личним подацима, животним навикама (пушењу, конзумацији алкохолних пића, кафе, чаја итд.) и са питањима о лековима и дијететским суплементима које испитаник користи. Понуђени су одговори о учесталости конзумације и количини, а како би се избегло прецењивање или потцењивање количине и учесталости остављена је и могућност да испитаник сам упише за себе најпрецизнију одредницу.

Други део упитника састоји се од 61 питања и обухвата оквирно 110 намирница. У овом делу груписана су питања о учесталости конзумације датих намирница. Понуђени одговори о учесталости конзумирања за сваку намирницу су: једном месечно, два до три пута месечно, једном недељно, два до три пута недељно, четири до шест пута недељно и

свакодневно. Намирнице су у овом делу упитника подељене према групама намирница. Група млечних производа окарактерисана је са 4 питања. Меса су обухваћена са 9 питања, док су рибе издвојене са 7 питања. Уља и масти чине посебну групу од 4 питања док су житарице и производи на њиховој бази издвојене у групи од 7 питања. Поврће као највећа група покривено је са 15 питања а воће са осам питања. Посебно су издвојена јаја, производи на бази какаа и грицкалице (чипс, смоки, кикирики) а као обогаћене намирнице издвојени су житне пахуљице и мусли као и витаминski напитак (Цедевита или Мултивита као бренд имена најчешће коришћених витаминских напитака код нас).

Трећи део упитника представљају питања о величинама порција и количинама конзумираних намирница. Састоји се од 39 питања са фотографијама на којима су приказане мала, средња и велика порција или мала и велика порција у зависности од типа намирнице. Такође је остављена могућност да испитаник упише величину порције у грамима ако му је она позната. Цео упитник дат је у прилогу.

Свака од испитаница након попуњеног информационог пристанка добијала је упитник и попуњавала га је у присуству компетентног стручног лица ради прецизности и потпуности датих одговора. Након завршетка попуњавања упитника стручно лице (лекар или нутриционista) је проверавало да ли су дати прецизни одговори на сва питања из упитника.

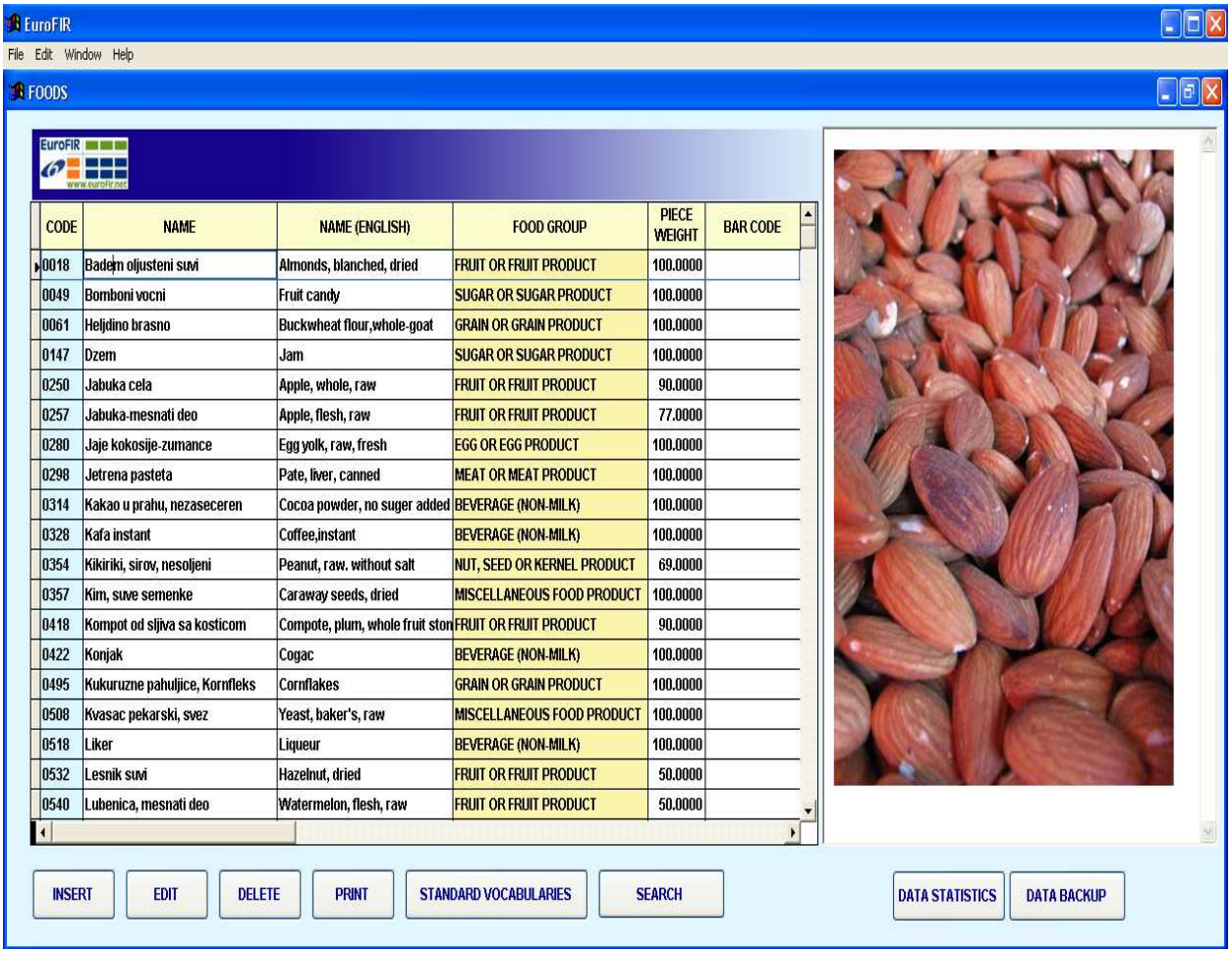
Учесталост конзумације уз величину порције, односно количину конзумиране намирнице, трансформисана је у вредности просечног дневног уноса израженог у грамима за сваку намирницу или групу намирница. Подаци о укупном енергетском уносу као и уносу одређених микро- и макронутријената на дневној бази добијени су помоћу електронске базе о саставу намирница (FCDB) нашег поднебља (94).

3.2.2. База података у саставу намирница

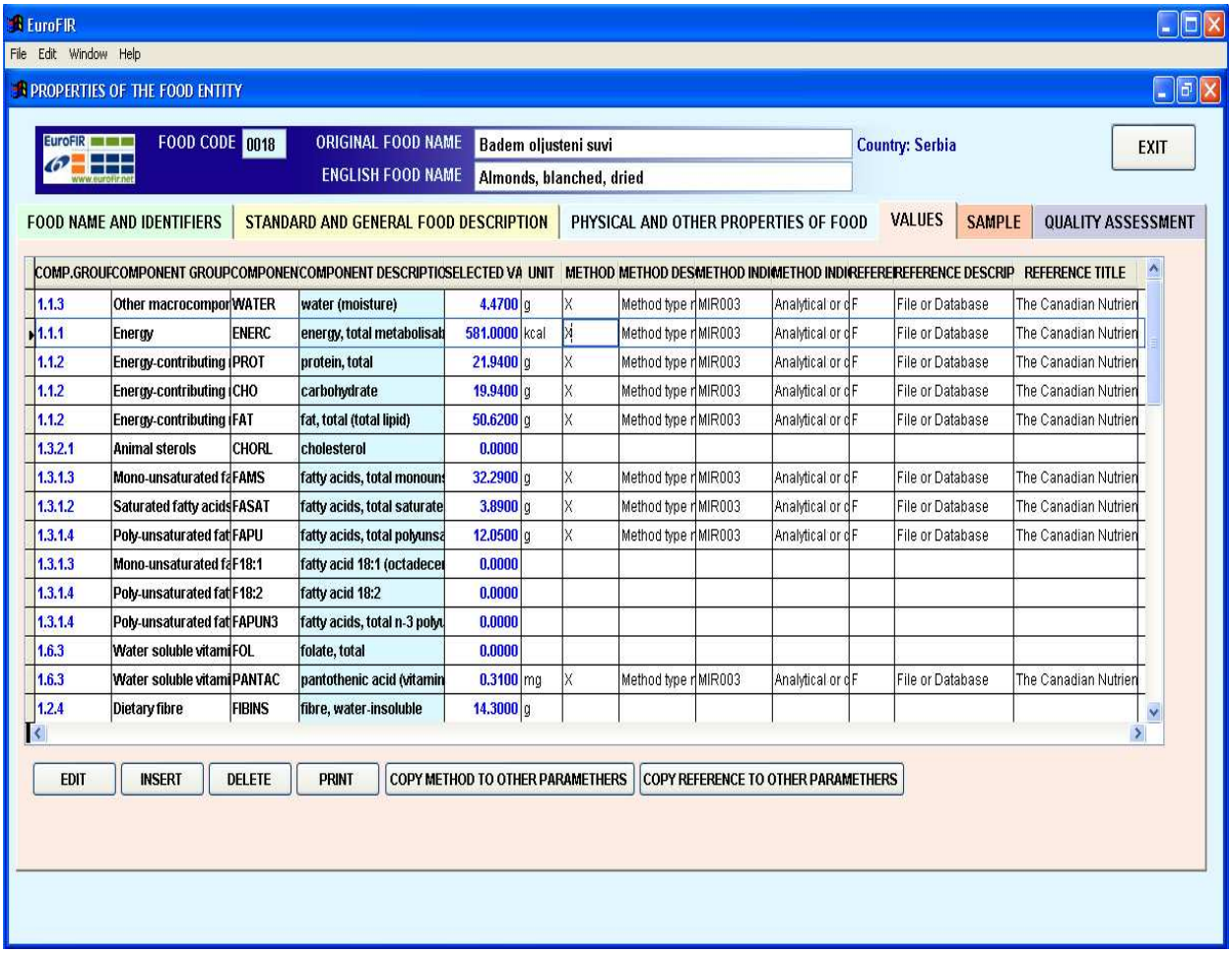
Прва електронска база података о нутритивном саставу намирница у нашој земљи (85) направљена је у оквиру европског FP6 пројекта EuroFIR (реф сајта) према EuroFIR препорукама и стандардима. Садржи 1144 намирнице са нашег подручја означене као храна (FOOD) (Слика 5). Намирнице су подељене по групама према стандардној Lanqual класификацији. Свака намирница је појединачно дефинисана у складу са стандардним

захтевима за намирнице. Поред самих намирница посебан део је посвећен информацијама о узорцима (Sample information) и рецептима у оквиру којих се налазе описи састојака који улазе у њихов састав, начин припреме датог рецепта (јела) као и фактори који утичу на промену при припреми. Свака намирница садржи податке о својим компонентама- микро и макро нутријентима (Слика 6) као и детаљан опис метода који су коришћени за анализу сваке компоненте појединачно (званичан метод анализе, аналитички поступак који је спроведен као и лабораторијске услове). Свака појединачна вредност (value) микро- или макронутријента је описана изабраном вредношћу и статистичким параметрима уколико су доступни (Слика 7). Референце садрже релевантне библиографске податке о вредностима параметара унетих у базу (назив публикације, ауторе, датум публиковања, тип референце итд.).

Контрола квалитета (Quality Assesment) представља систем за одређивање интернационалног индекса квалитета за сваку појединачну намирницу и базу у целини. Оно што издваја базе података хармонизоване према EuroFIR стандардима, је да је свака намирница кодирана према Lanqual-u – стандардизованом, новом, посебно дизајнираном и прилагођеном шифрарнику. Овај универзални језик кодова је језик будућности за базе података о саставу намирница јер је циљ да све европске базе података о саставу намирница буду прилагођене том шифрарнику, док ће нове бити рађене у складу са њим. Тиме ће се омогућити униформнија, а самим тим и једноставнија претрага база података по кодовима.

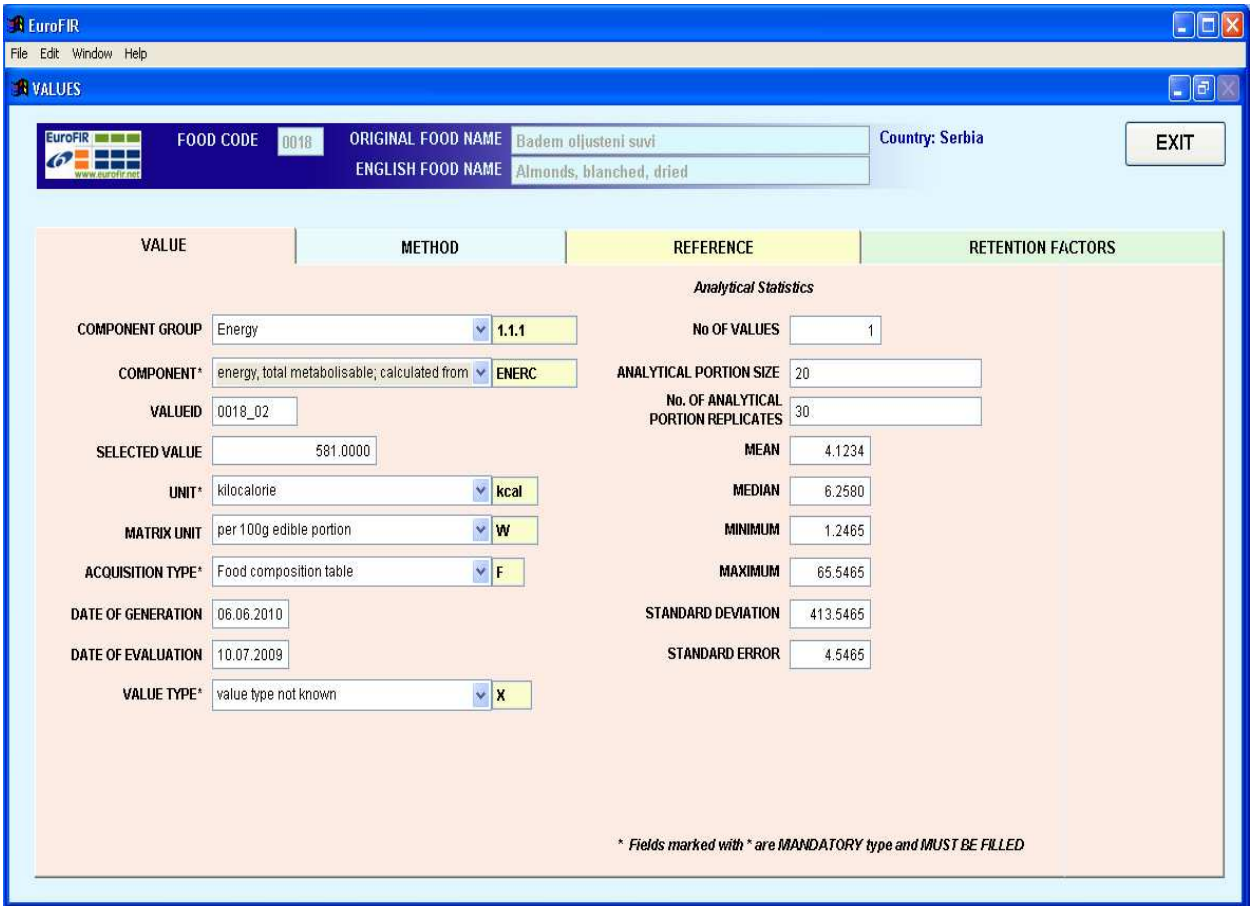


Слика 5. ***База података о саставу намирница***



COMP.GROUP	COMPONENT GROUP	COMPONEN	COMPONENT DESCRIPTIO	SELECTED VA	UNIT	METHOD	METHOD DES	METHOD INDI	METHOD INDI	REFERE	REFERENCE DESCRIP	REFERENCE TITLE
1.1.3	Other macrocompor	WATER	water (moisture)	4.4700	g	X	Method type r	MIR003	Analytical or d	F	File or Database	The Canadian Nutrien
1.1.1	Energy	ENERC	energy, total metabolisat	581.0000	kcal	X	Method type r	MIR003	Analytical or d	F	File or Database	The Canadian Nutrien
1.1.2	Energy-contributing	PROT	protein, total	21.9400	g	X	Method type r	MIR003	Analytical or d	F	File or Database	The Canadian Nutrien
1.1.2	Energy-contributing	CHO	carbohydrate	19.9400	g	X	Method type r	MIR003	Analytical or d	F	File or Database	The Canadian Nutrien
1.1.2	Energy-contributing	FAT	fat, total (total lipid)	50.6200	g	X	Method type r	MIR003	Analytical or d	F	File or Database	The Canadian Nutrien
1.3.2.1	Animal sterols	CHORL	cholesterol	0.0000								
1.3.1.3	Mono-unsaturated fa	FAMS	fatty acids, total monouns	32.2900	g	X	Method type r	MIR003	Analytical or d	F	File or Database	The Canadian Nutrien
1.3.1.2	Saturated fatty acids	FASAT	fatty acids, total saturate	3.8900	g	X	Method type r	MIR003	Analytical or d	F	File or Database	The Canadian Nutrien
1.3.1.4	Poly-unsaturated fat	FAPU	fatty acids, total polyunsa	12.0500	g	X	Method type r	MIR003	Analytical or d	F	File or Database	The Canadian Nutrien
1.3.1.3	Mono-unsaturated fa	F18:1	fatty acid 18:1 (octadecer	0.0000								
1.3.1.4	Poly-unsaturated fat	F18:2	fatty acid 18:2	0.0000								
1.3.1.4	Poly-unsaturated fat	FAPUN3	fatty acids, total n-3 polyu	0.0000								
1.6.3	Water soluble vitami	FOL	folate, total	0.0000								
1.6.3	Water soluble vitami	PANTAC	pantothenic acid (vitamin	0.3100	mg	X	Method type r	MIR003	Analytical or d	F	File or Database	The Canadian Nutrien
1.2.4	Dietary fibre	FIBINS	fibre, water-insoluble	14.3000	g							

Слика 6. ***Вредности микро и макро нутријената за појединацну намирницу***



Слика 7. ***Вредност појединацног параметра (микро или макро нутријента) и параметри који га описују***

Свака намирница из упитника повезана је са истом намирницом у бази података. Вредности микро- и макронутријената за сваку од намирница из упитника множене су са фреквенцом конзумирања исте намирнице добијене на основу одговора испитаника, и на тај начин добијени су подаци о количини уноса микро и макронутријената за сваког испитаника.

3.3. Анализа масних киселина

3.3.1. Анализа маснокиселинског профила фосфолипида еритроцита гасно-течном хроматографијом

За анализу маснокиселинског састава фосфолипида серума или ткива укупни липиди се екстрахују смешом органских растварача, фосфолипидна фракција се изолује после раздвајања липидних класа танкослојном хроматографијом (chromatography TLC), а после хидролизе и метилације добијени метил-естри МК фосфолипида анализирају се гасно-течном хроматографијом (liquid chromatography GLC).

3.3.2. Екстракција укупних липида еритроцита

Принцип методе:

Липидна екстракција је квантитативна екстракција укупних липида из полазног материјала, при чему се нелипидне супстанце (аминокиселине, шећери, метаболити) не екстрахују. Липиди се екстрахују неполарним растварачима (етилетар, хлороформ, бензен). Алкохол метанол је неопходни састојак екстракционе смеше, јер при екстракцији разбија комплексе липид(и)-протеин(и) и инактивира деградационе ензиме (нпр. липазе). Такође, при екстракцији, треба онемогућити оксидовање двогубих веза незасићених масних киселина, а да би се то спречило у смешу растварача за екстракцију се додају антиоксиданси (нпр. 2,6-би-терцбутил-хидрокси-тоулен, БХТ), (95).

За екстракцију липида еритроцита у овом раду примењивана метода по Harth-u (96).

Поступак:

Испрани еритроцити (1мл) су екстраховани са 5 мл смеше хлороформ-метанол 2:1 (в/в) (са додатком 50 мг БХТ на 100 мл смеше) а затим су третирани са 5 мл смеше хлороформ-метанола 1:2 (в/в) у коју је додато 250μл дестиловане воде и на крају са 5 мл смеше хлороформ-метанол 1:1 (в/в). Добијени екстракти су упарени до сува на вакуум-

упаривачу. Суви пречишћени екстракт раствара се у 10 мл смеше хлороформ-метанол 1:1 (в/в) и користи се за ТЛЦ хроматографско раздвајање липидних класа.

3.3.3. Раздвајање липидних класа ТЛЦ хроматографијом (97)

Принцип методе:

Танкослојна хроматографија на силикагелу је најједноставнија метода за раздвајање укупних липида у класа, која се заснива на разлици у њиховој растворљивости. Као елуент за хроматографско раздвајање фосфолипида од осталих липидних класа најчешће се користи систем растварача хексан-диетилетар-сирћетна киселина у различитим запреминским односима (95).

Поступак:

Фосфолипиди серума изоловани су једнодимензионалном ТЛЦ на силика-гелу ГХ, дебљине 0.5 мм. Тотални липидни екстракт из 1 мл еритроцита наноси се на плочу која је претходно активирана на 110°Ц у току 1 сата. Као систем за развијање коришћена је смеша петролетер-диетилетар-сирћетна киселина (87:12:1 в/в/в). Раздвојене фракције липида идентификују се под УВ лампом (Слика 8).



Слика 8. TLC хроматограм неутралних липида

(PL = фосфолипиди, DG диацилглицероли, HOL = холестерол, FFA= слободне масне киселине, TG = триацилглицероли, HOL-E =естри холестерола)

3.3.4. Метиловање масних киселина

Принцип методе:

Анализа масних киселина гасно-течном хроматографијом спроводи се после њиховог превођења у неполарне метил-естре.Метил-естри масних киселина могу се добити дирекно трансестерификацијом липида који садрже МК.У овом раду МК су директно естерификоване по модофикованој методи трансестерификације Christopherson и Glass-a (98).

Поступак:

Фракција фосфолипида се екстрахује са одговарајућег слоја силика гела са 1.0 мл хексана. После мешања додаје се 0.2 мл 2М НаОХ у метанолу. Епрувете се инкубирају на 85°Ц у току једног сата. Потом се додаје 0.2 мл 1М X_2CO_4 у метанолу и епрувете термостатирају током два сата на 85°Ц. Након хлађења смеше се центрифугирају на 3000 обртаја / мин и одвојени хексански слој упари да би се добили суви екстракти у струји азота.

3.3.5. Анализа масних киселина гасно-течном хроматографијом (97)

Принцип методе:

Раздвајање метил естара МК врши се гасно-течном хроматографијом (GLC). Идентификација МК могућа је на основу ретенционих времена, која су зависна од температуре и брзине протока гаса. Зато се за идентификацију најчешће користе релативна ретенциона времена, на основу поређења за ретенционим временом стандарда.

Поступак:

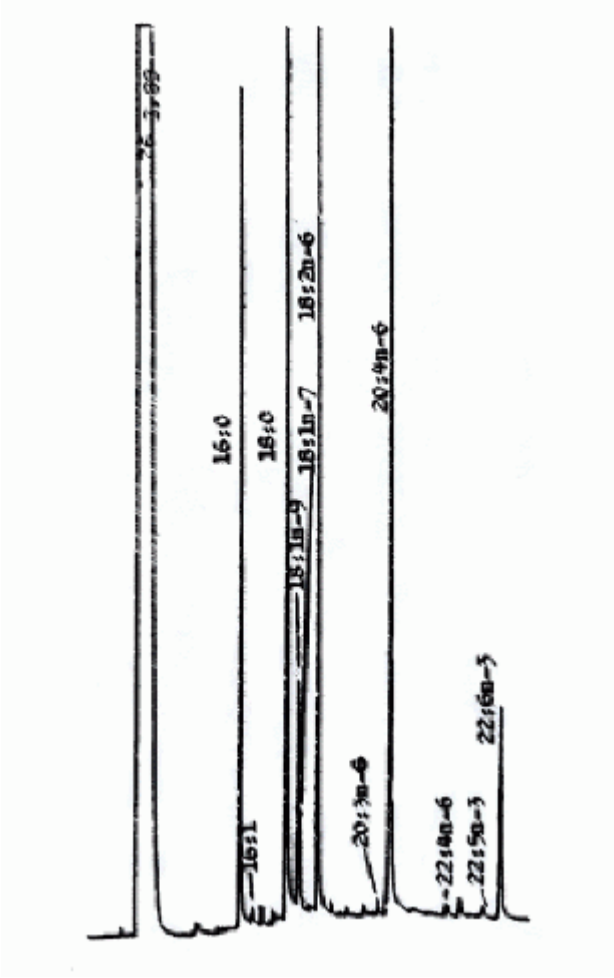
Масне киселине су анализиране на гасном хроматографу Shimazu 2014 капиларном колоном. Рестек-2380, димензија 60м и 0.20 мм ИД. Проток носећег гаса (хелијума) је 11 мл/мин а ваздуха 500 мл/мин, а водоника 50 мл/мин. Температура детектора је 250°Ц.

Узорак раније припремљених метил-естара је непосредно пре инјектирања у 10 μл хексана (зависно од количине сувог остатка), а од тога се инјектирало 1 μл. Масне

киселине су раздвајане методом у којој је почетна температура колоне 140°Ц, која постепено расте до 220°Ц.

Масне киселине су идентификоване упоређивањем са хроматограмом стандарда МК.Садржаји појединачних масних киселина изражени су процентима од укупно детектованих МК на основу површине њихових пикова.

Типичан ГЛЦ хроматограм масних киселина фосфолипида еритроцита приказан је на слици 9.



Слика 9: GLC хроматограм масних киселина

3.4. Анализа активности антиоксидативних ензима у хемолизату еритроцита испитаника

3.4.1 Анализа активности супероксид-дизмутазе

Активност супероксид-дизмутазе одређивана је комерцијалним китом RANSOD (Biorex,UK)

Принцип методе:

Активност супероксид-дизмутазе одређује се на основу реакције 2-(4-јодофенил)-3-(4-нитрофенол)-5-фенилтетразолијум хлорида (INT) и супероксидног анјона при чему настаје црвено обојено једињење чија се апсорбанција мери на 505nm. Супероксидни анјон генерише се у систему ксантин-ксантин оксидаза. Деловањем супероксид-дизмутазе долази до смањења концентрације супероксидног анјона и инхибиције бојене реакције, и на основу процента ове инхибиције одређује се активност ензима. Активност од 1AU/ml је активност ензима која у дефинисаним реакционим условима доводи до 50% инхибиције реакције формирања формазанског комплекса

Интензитет апсорбанције прати се континуирано у периоду од 3 минута, и приказује се као средња вредност промене апсорбанције по минути за серију стандарда и испитиване узорке, и на основу стандардне криве одређује активност ензима присутног у узорку.

3.4.2. Анализа активности каталазе

Каталаза је ензим присутан у еритроцитима који катализује реакцију разлагања водоник пероксида

$2H_2O = 2H_2O + O_2$

Активност каталазе у еритроцитима периферне крви и крви пупчаника здравих трудница и трудница са прееклампсијом одређивана је методом по Goth-у (1991).

Принцип методе:

Активност каталазе одрђивана је на основу смањења количине присутног водоник-пероксида деловањем ензима у узорку, у трајању од 1 минута на температури од 37°C. Ензимска реакција се прекида додавањем амонијум-молибдата ($NH_4Mo_7O_{24}$) који са

водоник-пероксидом присутним у реакционој смеши гради жуто обојено једињење чија се апсорбанција мери на 405nm. Активност каталазе изражава се у арбитарним јединицама (AU) по граму хемоглобина, при чему једна арбитарна јединица разлаже 1μM водоник-перокида у периоду од 1 минута при описаним условима реакције. За израчунавање активности каталазе примењује се следећа формула:

$$\text{Активност каталазе (AU/g Hb)} = \frac{A(sp2)-A}{A(sp1)} \times 271/c \times V$$

Где су:

A – апсорбанција

c – концентрација хемоглобина у узорку (g/L)

V– запремина узорка

Узорак:1ml раствора супстрата 0,2ml разблаженог хемолизата (инкубација у трајању од 60 s на 37°C, 1ml раствора молибдата.

Sp 1 (слепа проба1):1ml раствора супстрата, 1ml rastvora molibdata i 0,2 ml хемолизата разблаженог тако да активност каталазе буде мања од 100 AU/g Hb

Sp 2:1ml раствора супстрата, 1ml раствора молибдата и 0,2ml фосфатног пуфера

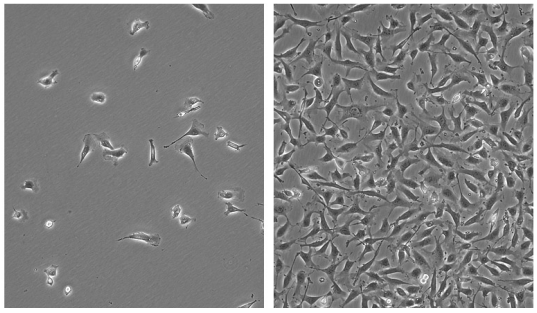
Sp3: 1ml фосфатног пуфера, 1ml раствора молибдата и 0,2ml фосфатног пуфера

3.5. Испитивање утицаја рибљег уља на преживљавање EA.hy926 ћелија третираних водоник пероксидом- *in vitro*

3.5.1. Материјал и ћелијска култура

Као извор полинезасићених масних киселина у *in vitro* експериментима коришћено је рибље уље стандардизовано на 18 % EPA и 12% DHA.

У *in vitro* експериментима испитивања протективног деловања PUFA на оштећење ендотелијума изазвано оксидативним стресом, као и у *ex vivo* експериментима утицаја конзумације оброка богатог мастима на статус ендотела, коришћена је имортализована ендотелна ћелијска линија EA.hy926. Она је настала спајањем (хибридизацијом) HUVEC ћелија (хуманих ендотелних ћелија умбиликалне вене) и континуиране хумане ћелијске линије карцинома плућа A549. Карактеристике малигно трансформисане ћелијске линије од које су настале омогућавају EA.hy926 ћелијама да при оптималним условима култивисања, *in vitro,* неогарничено расту и деле се, истовремено задржавајући велики број карактеристике ендотелних ћелија, чиме се рационализује њихова примена као модела ендотела у испитивању великог броја процеса у вези са његовом функцијом (99). Основна разлика између EA.hy926 ћелија и HUVEC ћелија, од којих воде порекло, је смањена способност пролиферације и миграције EA.hy 926 у присуству VEGF, која се објашњава разликом у експресионом профилу интегрина (100). EAhy.926 ћелијска линија представља до сада набоље окарактерисану макроваскуларну ендотелијалну ћелијску линију и доступна је као комерцијална ћелијска линија. Ћелијска линија са којом се радило је набављена из америчке колекције типизираних култура (engl. American Tupe Culture Collection - ATCC).



Слика 10. Фазно-контрасне микрофотографије EA.xy 926 ћелија у култури при малој и великој густини сађења

EA.xy926 ћелије су вретенасте и адхерентне и у *in vitro* условима задржавају контактну инхибицију, тј. ћелије се шире по површини посудице за гајење (engl.flask), а контакт са суседном ћелијом представља сигнал за престанак даљег раста и умножавања. Применом електронске микроскопије у цитоплазми EA.xy926 ћелија уочавају се Weibel-Paladeova-ова телашца и специфичне органеле, карактеристичне за диференциране ендотелне ћелије и њихову функцију у ангиогенези, хемостази, тромбози, инфламацији и регулацији крвног притиска (101).

За постизање оптималних услова све коришћене ћелије су гајене у одговарајућим посудама, у DMEM хранљивој подлози тј. Eagle-овом медијуму модификован по Dulbecco-у тако да садржи 4мМ Л-глутамина, 4500мг/Л глукозе, 1мМ натријум пирувата и 1500 мг/Л натријум бикарбоната и уз додатак 10% феталног серума говечета (FSG), пеницилина (100 ИУ/мл) и стрептомицина (100μг/мл). Након суплементације pH раствор хранљиве подлоге је раствором бикарбонатног пуфера доведен до вредност 7,2 и профилтриран кроз филтер величине пора од 0,22μм. Услови гајења су подразумевали температуру од 37°C, у атмосфери ваздуха, са 5% угљен диоксида.

3.5.2. Одређивање преживљавања ћелија – MTT тест

За испитивање утицаја рибљег уља на преживљавање EA.xy926 ћелија третираних водоник пероксидом, ћелије су након трипсинзације ресуспендоване у хранљивој подлози (DMEM+10% FCG) и у одговарајућем броју засејаване у мирко плочу са 96 базена. Оптималан број засађених ћелија одређен је из крива експоненцијалног раста и износио је 7500 ћелија/цм^2(2500 ћелија/базену). Након 24h од засејавања ћелија, када су адхерирале за подлогу и ушле у фазу експоненцијалног раста, ћелије су третиране серијом разблажења рибљег уља (0,1-100μл/мл) и инкубиране 24h при температуру од 37°C, у атмосфери ваздуха, са 5% угљен диоксида. Као растварач рибљег уља коришћен је апсолутни етанол, тако да је његова финална концентрација била мања од 0,5%, а ова концентрација етанола коришћена је и за третман ћелија у контролним базенима. Након 24h инкубације, ћелије у свим базенима третиране су раствором водоник-пероксида у финалној концентрацији од 300μM, и инкубиране наредних 12h. Након ове инкубације медијум је уклоњен и замењен новим медијумом, а вијабилност ћелија одређена MTT есејем.

MTT тест у микрокултури је тест за одређивање осетљивости (хемосензитивности) ћелија на деловање различитих супстанци. MTT (3[4,5-диметилтиазол-2-ил]-2,5-дифенил тетразолијум бромид) је тетразолијумска со жуте боје која се у метаболички активним ћелијама, редукционом реакцијом у митохондријама, катализованом ензимом сукцинат дехидрогеназа, преводи у кристале формазана. Љубичасти кристали формазана, иначе нерастворни у воденом раствору, постају растворни додавањем SDS-а или неког другог растварача. Тако добијен растворен формазански продукт квантификује се спектрофотометријски на ЕЛИСА читачу на таласној дужини од 570нм.

Преживљавање (S, од енгл. *survival*-преживљавање) је квантификовано коришћењем формуле за добијање индекса преживљавања **S**:

$$S = \frac{A_{uzorka} - A_{sl.proba}}{A_{kontrole} - A_{sl.proba}}$$

$A_{узорка}$ - средња вредност измерене апсорбанце на 570 нм у отвору са третираним ћелијама

$A_{контроле}$ - средња вредност измерене апсорбанце на 570 нм у отвору са нетретираним ћелијама

$A_{сл.проба}$ - средња вредност измерене апсорбанце на 570 нм у отвору без ћелија а са раствором испитиване супстанце

Множењем индекса преживљавања (S) са 100, добија се проценат преживљавања.

IC50 је концентрација цитотоксичног агенса која индукује 50% инхибиције у преживљавању циљних ћелија. Ова вредност се користи као мера интензитета антипролиферативног дејства неког агенса.

Сви експерименти су извођени у квадрипликату, а резултати приказани као средња вредност ± стандардна девијација три независна експеримента.

3.6. Спектрофотометријско одређивање концентрације нитрита у плазми

Принцип методе:

Азот оксид (NO) је важан медијатор многих физиолошких процеса , а спонтаном оксидацијом у физиолошким условима NO се преводи у нитрите.Концентрацију нитрита у биолошким узорцима могуће је одредити Греисовом реакцијом диазотовања. У првом кораку сулфанилна киселина се квантитативно преводи у диазонијум со у реакцији са нитритима.Диазотијум со се потом куплује са N-(1-нафтил)етилендиамином формирајући азо боју која се може спектрофотометријски квантификовати на основу своје апсорбанце на 520-550nm.

Поступак:

Реагенси:

Компонента А: 0.1% раствор N-(1-нафтил)етилендиамина у дестилованој води

Компонента В: 1% раствор сулфанилне у 5% фосфорној киселини

Компонента С: 1mmol натријум нитрита у дестилованој води

Припремање Грисовог реагенса:

Помешане су компонента А и компонента Б у запреминском односу 1:1 непосредно пре мерења.

Есеј у микротитар плочама:

У бунарчић микротитар плочице одмерено је:

20 микролитара Грисовог реагенса

150 микролитара плазме,стандарда

130 микролитара воде

Смеша је инкубирана на собној температури 5 минута, после чега је мерена абсорбанца на 540nm наспрам слепе пробе (20 микролитара Грисовог реагенса и 280 микролитара воде)

Калибрација:

Припремљени су стандарди нитрита концентрације од 1-100 mikromol/l и на основу апсорпционе криве одређивана је концентрација нитрита у плазми.

3.7..Статистички метод обраде резултата

У овој студији коришћене су дескриптивне и аналитичке статистичке методе.

Од дескриптивних метода коришћени су апсолутни и релативни бројеви, мере централне тенденције (аритметичка средина,медијана) и мере дисперзије (СД, интервал).

Од аналитичких метода коришћени су тестови разлике и анализа повезаности.

Тестови разлике који су коришћени у овој студији су непараметарски и параметарски тестови.

Непараметарски тестови коришћени у овој студији су:Hi kvadrat тест иMann-Whitney U тест.

Параметарски тестови коришћени у овој студији су t тест и анализа варијансе поновљених мерења.

За анализу повезаности коришћена је Пирсонова и Спирманова корелациона анализа.

Резултати су графички приказани помоћу стубичастог бохплот дијаграма и тачкастог дијаграма.

Подаци су обрађени SPSS 12.0 (Чикаго,Илионис,USA) софтверском пакету.

KLINIČKI CENTAR SRBIJE
ETIČKI ODBOR
Broj: 1856/16
Dana: 16.12.2010. godine
Beograd, Pasterova br. 2

Na osnovu odredaba Zakona o proizvodnji i prometu lekova (Sl. glasnik RS br. 84/04), Pravilnika o uslovima i načinu kliničkog ispitivanja leka, postupku i sadržaju dokumentacije za odobrenje kliničkog ispitivanja leka (Sl. glasnik RS br. 19/07), Poslovnika o radu Etičkog odbora Kliničkog centra Srbije br. 60 od 12.02.2008. god, postupajući u skladu sa Načelima dobre kliničke prakse (GCP), Etički odbor Kliničkog centra Srbije u sastavu: Prof. dr Živan Maksimović - hirurg, predsednik i članovi: Prof. dr Ana Šijački–hirurg, Prof. dr Ivo Elezović-hematolog, Prof. dr Ivan Tulić-ginekolog, Prof. dr Ljiljana Medenica-dermatovenerolog, Prof. dr Ljiljana Janošević-otorinolaringolog, Prof. dr Milica Prostran–klinički farmakolog, Jerej Zoran Kerezović – sveštenik SPC i Prof. dr Miroslava Jašović – Gašić - psihijatar, odlučujući o zahtevu Dr Vesne Aleksić-Veličković, na svojoj 93. sednici održanoj dana 16.12.2010. godine, doneo je sledeću

O D L U K U

Odobrava se sprovođenje ispitivanja (studije) u svrhu izrade doktorske disertacije pod nazivom: „Značaj, uloga i profil polinezasićenih masnih kiselina (PUFA) u preeklampsiji". Autor rada je Dr Vesna Aleksić-Veličković. Mentor doktorske disertacije je Prof. dr Milica Berisavac.

Ispitivanje će biti sprovedeno na Klinici za ginekologiju i akušerstvo (GAK) Kliničkog centra Srbije, na osnovu sledeće dokumentacije:

1). Protokol ispitivanja,

2). Opis načina za pristanak pacijentkinja,

3). Izjava o etičkim dokumentima kojih se Protokol pridržava, potpisana od strane Dr Vesne Aleksić-Veličković i Prof. dr Milice Berisavac,

4). Informacija za pacijenta na srpskom jeziku od 29.11.2010. god.,

5). Obrazac za davanje pisane saglasnosti pacijenta na srpskom jeziku od 29.11.2010. god.,

6). Saglasnost Kolegijuma Klinike za ginekologiju i akušerstvo Kliničkog centra Srbije, potpisana od strane direktora - Prof. dr Aleksandra Ljubića i

7). Saglasnost direktorke Instituta za medicinska istraživanja - Dr Gordane Jovčić i rukovodilaca naučnoistraživačke grupe - Dr Marije Glibetić da se eksperimentalni deo doktorske disertacije uradi u Institutu za medicinska istraživanja Univerziteta u Beogradu, kao i izjava o postupanju sa biološkim materijalom.

PREDSEDNIK
ETIČKOG ODBORA

Prof. dr Živan Maksimović

IV РЕЗУЛТАТИ

4. РЕЗУЛТАТИ

Опште карактеристике учесница у студији

У студију је ушло укупно 61 испитаница, од чега 31 (50.8%) са прееклапсијом и 30 (49.2%) здравих трудница (контролна група). Просечна старост свих испитаница износила је 27.9±4.5 година. Најмлађа испитаница имала је 17 година, док је најстарија имала 35 година. Просечна старосна доб испитаница са прееклапмсијом износила је 28.1±4.8 године, док је просечна старост испитаница контролне групе износила 27.7±4.2 године. Анализирајући просечне старости ове две групе утврђено је да нема статистички значајне разлике по старосној доби (t=0.336; p=0.738).

Трајање хоспитализације и недеља гестације на пријему и порођају

Дескриптивна статистика трајања хоспитализације и недеље гестације на пријему и порођају приказана је у табели 3.

Табела 3. Трајање хоспитализације и недеља гестације на пријему и порођају

	Група	Аритметичка средина	СД	Медиан	Мин	Макс	Резултат тестирања
Трајање хоспитализације	контролна	4.4	1.1	4	3	9	z=-5.977 p<0.001
	прееклампсија	12.8	11.5	9	4	68	
	Укупно	8.7	9.2	5	3	68	
НГ пријем	контролна	37.7	.5	38	36	38	z=-3.551 p<0.001
	прееклампсија	35.6	2.6	37	28	38	
	Укупно	36.6	2.1	38	28	38	
НГ порођаја	контролна	37.7	.5	38	36	38	z=-3.337 p<0.001
	прееклампсија	36.1	2.2	37	29	38	
	Укупно	36.8	1.8	38	29	38	

Из табеле се види да су испитанице са прееклампсијом имале у просеку дуже трајање хоспитализације, док су испитанице контролне групе имале дужу трудноћу и касније су хоспитализоване. Потребно је нагласити да је просечна вредност дужине

хоспитализације у групи испитаница са прееклампсијом и СД далеко веће него контролне групе због једне пацијенткиње која је имала екстремно дугу хоспитализацију, али се види да је и медијана два пута већа у групи пацијенктиња са прееклампсијом. Анализирајући резултате Mann-Whitney У тестом утврђено је да су све разлике статистички значајне.

Порођај и карактеристике новорођенчади

Од укупног броја испитаница, 23 (37.7%) су порођене царским резом, а 38 (62.3%) вагиналним путем. Од 30 испитаница контролне групе, 1 пацијенткиња (3.3%) је порођено царским резом док је у групи испитаница са прееклампсијом 22 (71%) порођено царским резом. На основу резултата Хи-квадрат теста утврђено је да постоји статистички значајна разлика између ове две групе по начину завршетка порођаја (X^2=29.692; п<0.001).
У следећој табели дата је дескриптивна статистика и резултати тестирања карактеристика новорођенчади по испитиваним групама.

Табела 4. Карактеристике новорођенчади

	Група	Аритметичка средина	СД	Медиана	Минимум	Максимум	Резултат тестирања
АС 1мин	контролна	8.9	.2	9	8	9	z=-5.914 p<0.001
	прееклампсија	7.1	1.4	8	4	9	
	Укупно	8.0	1.3	9	4	9	
АС 5мин	контролна	9.0	.0	9	9	9	z=-4.843 p<0.001
	прееклампсија	7.8	1.2	8	4	9	
	Укупно	8.4	1.1	9	4	9	
Обим главе	контролна	34.8	1.0	35	32	37	t=-3.915 p<0.001
	прееклампсија	33.1	2.2	33	27	37	
	Укупно	33.9	1.9	35	27	37	
ТМ	контролна	3366.6	359.6	3425	2650	4100	t=-4.606 p<0.001
	прееклампсија	2624.5	819.2	2700	850	4050	
	Укупно	2989.5	733.5	3200	850	4100	
ТД	контролна	50.9	1.7	51	46	54	t=-4.053 p<0.001
	прееклампсија	47.6	4.1	49	35	54	
	Укупно	49.2	3.5	50	35	54	

Из табеле се види да су просечни апгар скорови у првом и петом минуту били статистички значајно мањи код новорођенчади испитаница са прееклампсијом. Такође, антропометријске мере новорођенчади биле су значајно мање у групи испитаница са прееклампсијом.

Крвна слика и CRP

Свим пацијенткињама је урађена крвна слика и CRP и дескриптивна статистика и резултати тестирања ових параметара су приказани у табели 5.

Табела 5. Крвна слика

	Група	Аритметичка средина	СД	Медиан	Минимум	Максимум	Резултати тестирања
Er	контролна	4.2	.51	4.1	3.4	5.8	т=-3.134 п=0.003
	прееклампсија	3.7	.51	3.7	2.9	5.0	
	Укупно	4.0	.55	3.9	2.9	5.80	
Hgb	контролна	121.0	13.1	122	99.0	156.0	т=-3.245 п=0.002
	прееклампсија	109.4	14.5	107	84.2	144.0	
	Укупно	115.2	14.9	114	84.2	156.0	
Le	контролна	12.9	2.9	13.4	7.5	20.1	З=-1.228 п=0.219
	прееклампсија	15.1	6.0	13.6	8.7	40.1	
	Укупно	14.1	4.8	13.0	7.5	40.1	
CRP	контролна	6.4	6.3	5	5	38	З=-5.913 п<0.001
	прееклампсија	46.1	39.0	31	5	147	
	Укупно	24.9	33.3	5	5	147	

На основу резултата из табеле 3. се види да испитанице са прееклампсијом имају статистички значајно мање просечне вредности еритроцита, хемоглобина, док су вредности CRP-а значајно веће. Просечна вредност леукоцита је нешто већа у групи испитаница са прееклампсијом, али та разлика није статистички значајна.

Укупни протеини и албумин

У лабораторијским анализама је, поред крвне слике мерена и вредност укупних протеина и албумина. Дескриптивна статистика испитиваних параметара и резултати тестирања приказани су у табели 6.

Табела 6. Укупни протеини и албумини

	Група	Аритметичка средина	СД	Медиана	Минимум	Максимум	Резултати тестирања
Укупни протеин	контролна	64.41	4.492	65.00	56	74	З=-1.379 п=0.168
	прееклампсија	56.58	6.859	58.00	45	68	
	Укупно	60.37	7.006	62.00	45	74	
Албумин	контролна	35.76	2.231	36.00	30	40	т=-5.820 п<0.001
	прееклампсија	30.67	4.221	32.00	22	38	
	Укупно	33.17	4.231	34.00	22	40	

Из табеле се види да су испитанице са прееклампсијом имале нешто ниже просечне вредности укупних протеина, али та разлика није статистички значајна. Насупрот укупним протеинима, постоји статистички значајна разлика између испитиваних група по количини албумина. Испитанице са прееклампсијом имају значајно ниже вредности од испитаница контролне групе.

Липидни статус

Дескриптивна статистика холестерола, ХДЛ-а, ЛДЛ-а и триглицерида код свих пацијенткиња заједно и по групама, као и резултати тестирања, приказани су у табели бр. 7

Табела 7. Липидни статус

	Група	Аритметичка средина	СД	Медиан	Минимум	Максимум	Резултати тестирања
холестерол	контролна	7.52	1.38	7.31	4.34	10.56	т=0.027 п=0.979
	преeклампсија	7.53	1.53	7.47	5.25	10.99	
	Укупно	7.53	1.45	7.37	4.34	10.99	
HDL	контролна	2.00	.41	1.96	.88	2.70	т=-2.302 п=0.025
	преeклампсија	1.77	.34	1.81	1.07	2.55	
	Укупно	1.88	.39	1.88	.88	2.70	
LDL	контролна	4.17	1.21	4.06	2.40	7.60	т=-0.671 п=0.505
	преeклампсија	3.96	1.18	3.86	1.71	7.12	
	Укупно	4.07	1.19	4.00	1.71	7.60	
триглицериди	контролна	2.97	1.15	2.99	1.34	6.85	З=-2.337 п=0.019
	преeклампсија	3.98	2.13	4.06	1.50	12.72	
	Укупно	3.49	1.78	3.17	1.34	12.72	

На основу липидног статуса видимо да испитанице са преeклампсијом имају статистички значајно нижу вредност HDL-а, а значајно вишу вредност триглицерида. Просечне вредности холестерола и LDL-а су врло сличне и ове разлие, очекивано, нису статистички значајне.

Протромбинско време (ПТ) и фибриноген

Поред наведених анализа, испитаницама је рађено протромбинско време и фибриноген. Дескриптивна статистика наведеног параметра и резултати тестирања приказани су у табели 8.

Табела 8. Протромбинско време и фибриноген

	Група	Аритметичка средина	СД	Медиан	Минимум	Максимум	Резултати тестирања
ПТ	контролна	25.7	1.9	26	22.1	28.0	т=1.890 п=0.067
	преeклампсија	26.9	1.8	27	23.9	30.3	
	Укупно	26.5	1.9	26	22.1	30.3	
Фибриноген	контролна	5.3	.5	5.1	4.8	6.6	З=-2.204 п=0.028
	преeклампсија	6.1	.8	6.1	5.0	7.5	
	Укупно	5.9	.8	5.6	4.8	7.5	

Из табеле се види да постоји статистички значајна разлика између група по вредности фибриногена и пацијенткиње са преeклампсијом имају веће просечне вредности од контролне групе. Анализирајући протромбинско време, утврђено је да су просечне вредности врло сличне и разлика није статистички значајна на конвенционалном нивоу значајности од 0.05.

Прираст телесне масе

Свим испитаницама је мерен добитак телесне масе током трудноће и дескриптивна статистика и резултати тестирана приказани су у табели 9.

Табела 9. Прираст телесне масе

	Група	Аритметичка средина	СД	Медиан	Минимум	Максимум	Резултати тестирања
Прираст телесне масе	контролна	16.2	4.6	16	6	28	З=-0.916 п=0.360
	преeклампсија	19.0	8.9	16	6	55	
	Укупно	17.7	7.3	16	6	55	

На основу добијених резултата утврђено је да су испитанице са преeклампсијом имале нешто већу просечну вредност прираста телесне масе, али пошто је и варијабилитет прираста био већи два пута, тумачећи медијане, можемо да закључимо да разлика није значајна.

Максимални артеријски притисак

Максимални артеријски притисак је анализиран у обе групе испитаница и дескриптивна статитстика и резултати тестирања приказани су у табели 10.

Табела 10. Максимални артеријски притисак

	Група	Аритметичка средина	СД	Медиан	Минимум	Максимум	Резултати тестирања
Систолни	контролна	120.3	9.9	120	100	140	т=14.454 п<0.001
	преeклампсија	169.5	15.8	165	130	220	
	Укупно	145.3	28.0	140	100	220	
Дијастолни	контролна	76.5	5.2	80	70	85	З=-6.796 п<0.001
	преeклампсија	109.3	9.3	110	90	130	
	Укупно	93.2	18.2	90	70	130	

Из резултата приказаних у табели 8 се види да су просечне вредности максималног систолног и дијастолниг притиска статистички значајно веће у групи испитаница са преeклампсијом.

Резултати дневника уноса

Испитанице су попуњавале упитник везан за унос намирница. На основу попуњеног упитника, апроксимацијом су израчунати параметри дневног уноса енергије, масти, угљених хидрата, протеина и слично.

Енергија

Дескрипција енергетског биланса дневног уноса за све испитанице заједно и по групама са резултатима тестирања приказана је у табели 11.

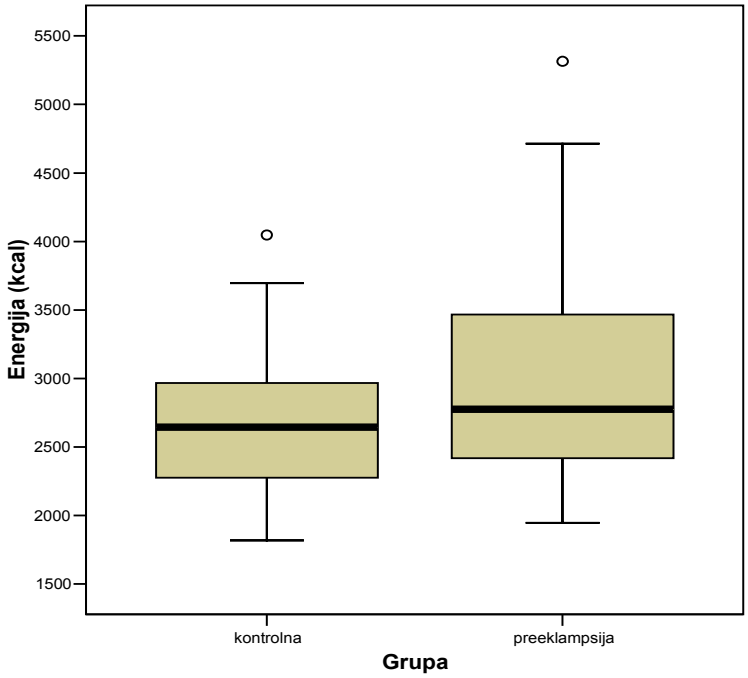
Табела 11. Енергетски унос

Група	Аритметичка средина	СД	Медиана	Минимум	Махимум	Резултат тестирања
контролна	2693.3	530.1	2645.5	1819	4047	З=-1.213
прееклампсија	3081.1	948.0	2775	1946	5315	п=0.225
Укупно	2890.6	789.4	2696	1819	5315	

Из табеле се види да не постоји статистички значајна разлика између група по енергетском уносу. Ипак, просечна вредност енергетског уноса је већа у групи испитаница са прееклампсијом, али је и варијабилитет два пута већи, па је логично да нема значајности, што указује и приближна вредност медијана.

Резултати су и графички приказани (Графикон 1).

Графикон1. Енергетски унос по групама



Протеини

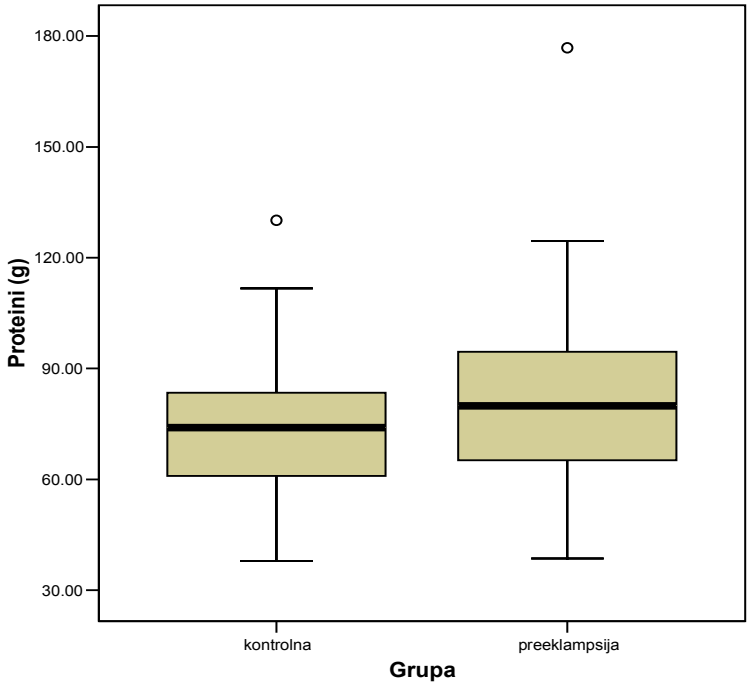
Дескриптивна статистика уноса протеина и резултат тестирања приказани су у табели 12.

Табела 12. Протеини

Група	Аритметичка средина	СД	Медиан	Минимум	Максимум	Резултат тестирања
контролна	75.5	20.2	74.0	37.8	130.1	т=-1.313
преeклампсија	83.8	27.2	79.9	38.6	176.8	п=0.197
Укупно	79.7	24.2	75.9	37.8	176.8	

На основу резултата т теста утврђено је да нема статистички значајне разлике између испитиваних група по уносу протеина у грамима. Ипак, из табеле се види да је и аритметичка средина и медијана већа у групи испитаница са преeклампсијом, само што је и варијабилитет нешто већи, па је и очекивано да није добијена статистичка значајност. Резултати су и графички приказана помоћу бохплот дијаграма (Графикон 2).

Графикон 2. Протеини



Угљени хидрати

Анализирана је разлика између испитиваних група по уносу угљених хидрата у грамима. Дескриптивна статистика и резултат тестирања приказан је у табели 13.

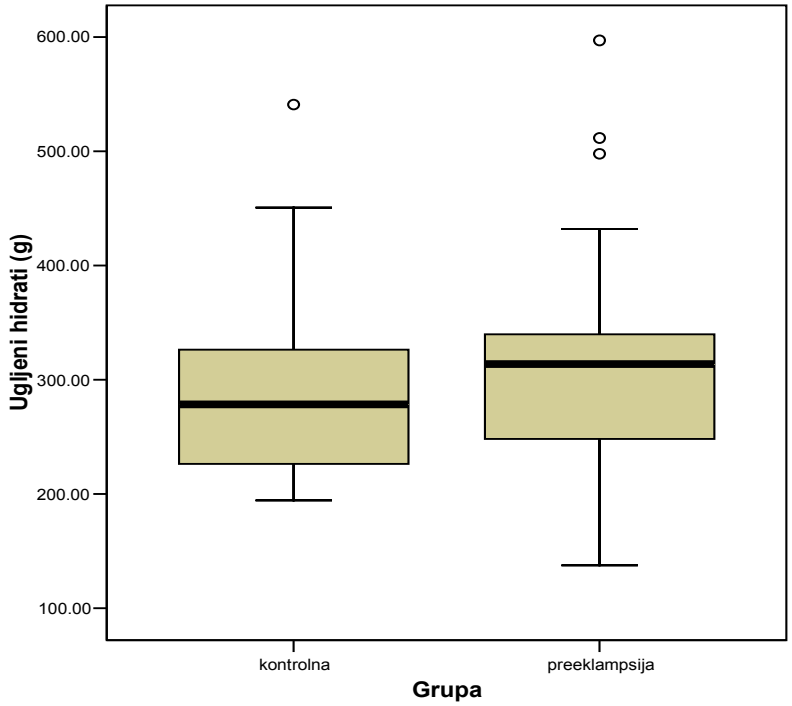
Табела 13. Угљени хидрати

Група	Аритметичка средина	СД	Медиан	Минимум	Максимум	Резултат тестирања
контролна	292.8	83.6	278.3	194.5	540.8	т=-0.756
преeклампсија	311.9	105.7	313.7	137.7	597.0	п=0.453
Укупно	302.5	95.1	303.9	137.7	597.0	

Из табеле се види да испитанице са преeклампсијом имају већу просечну вредност угљених хидрата и медијану, али пошто је и варијабилитет доста већи, разлика није статистички значајна.

Резултати су и графички приказани помоћу бохплот дијаграма (Графикон 3).

Графикон 3. Угљени хидрати



Укупне масти

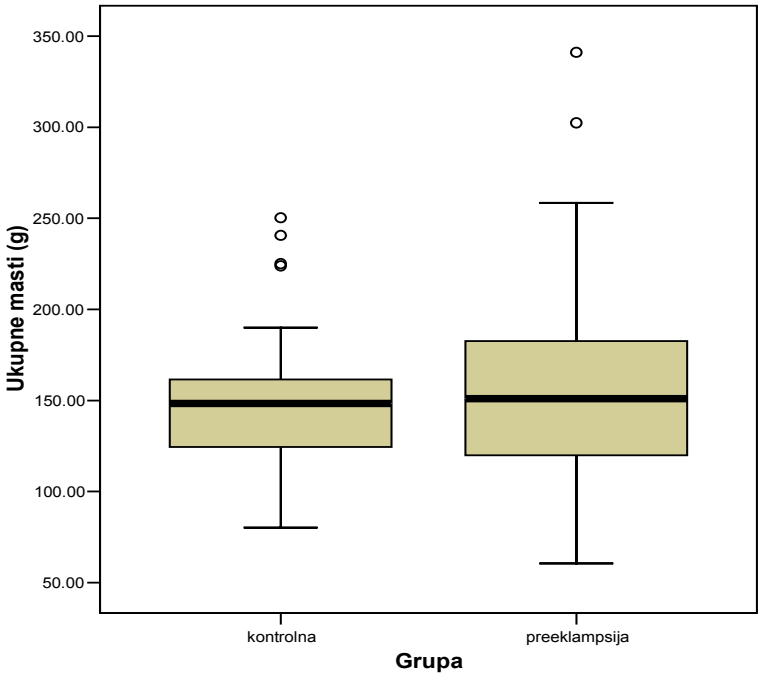
Поред протеина и угљених хидрата прорачунавана је и количина унесених масти у грамима. Дескриптивна статистика и резултат тестирања приказани су у табели 14.

Табела 14. Укупне масти

Група	Аритметичка средина	СД	Медиан	Минимум	Максимум	Резултат тестирања
контролна	151.0	44.2	148.3	80.2	250.3	т=-0.704 п=0.484
преeклампсија	161.4	64.6	151.1	60.5	341.1	
Укупно	156.3	55.3	151.1	60.5	341.1	

Из табеле се види да испитанице са преeклампсијом имају већу аритметичку средину, али медијану готово идентичну као и испитанице контролне групе. Такође, варијабилитет испитаница са преeклампсијом је, као и у претходним анализама, већи од варијабилитета контролне групе, па разлика није статистчки значајна.
Резултати су и графички приказани (Графикон 4).

Графикон 4. Укупне масти



Холестерол

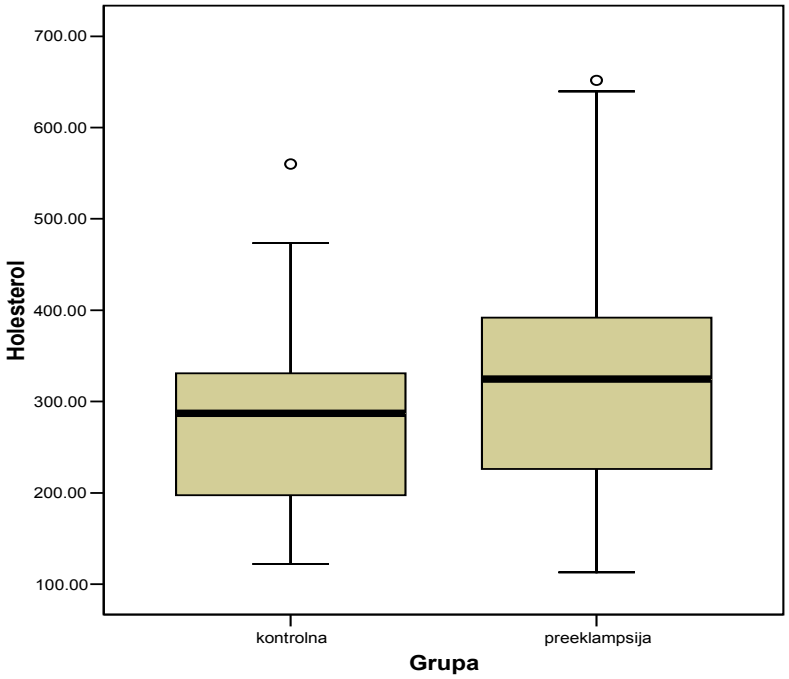
На сличан начин као и претходне варијабле, апроксимацијом на основу дневника уноса израчунат је и холестерол унет храном. Дескриптивна статистика и резултат међугрупног тестирања приказан је у табели 15.

Табела 15. Холестерол

Група	Аритметичка средина	СД	Медиана	Минимум	Максимум	Резултат тестирања
контролна	281.6	102.8	287.0	122.3	560.0	З=-1.293
преeклампсија	332.6	149.9	324.6	112.9	651.7	п=0.196
Укупно	307.5	130.3	293.9	112.9	651.7	

Из табеле се види да су као и у претходним случајевима, аритметичка средина и медијана испитиваног параметра веће у групи пацијенткиња са преeклампсијом, али и варијабилитет је већи у испитиваној групи па разлика није статистички значајна.
Резултати су приказани и графички (Графикон 5).

Графикон 5. Холестерол



Месо

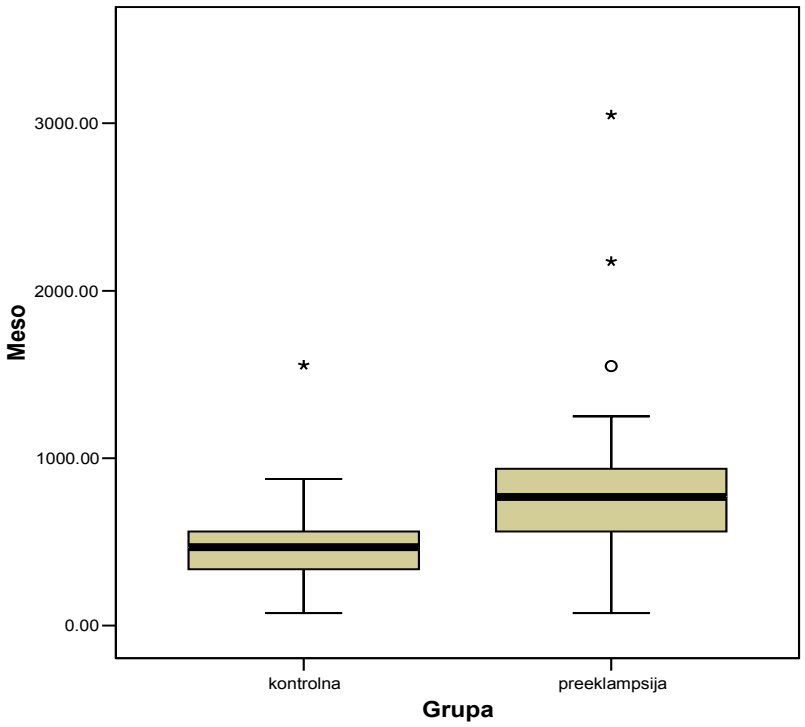
Дескриптивна статистика уноса меса и месних прерађевина у грамима на 7 дана и резултат међугрупног тестирања приказани су у табели 16.

Табела 16.Месо

Група	Аритметичка средина	СД	Медиана	Минимум	Максимум	Резултат тестирања
контролна	495.7	302.6	468.7	75	1556.2	З=-2.829
преeклампсија	834.0	612.3	768.7	75	3050.0	п=0.005
Укупно	677.4	518.2	575.0	75	3050.0	

Проблем већег варијабилитета у групи испитаница са преeклампсијом је и овде присутан па се из табеле види да су аритметичка средина и медијана веће него у контролној групи, али у овом случају разлика је високо статистички значајна.
Резултати су и графички приказани (Графикон 6).

Графикон 6. Месо



Морска и речна риба

Обзиром да је унос рибе у нашем узорку такав да одређен број испитаника уопште не уноси ову намирницу, пацијенткиње су из практичног разлога подељене у две групе, оне које уносе ову намирницу и оне које не, а затим су тестиране просечне количине унешене рибе само за испитанице које уносе рибу.

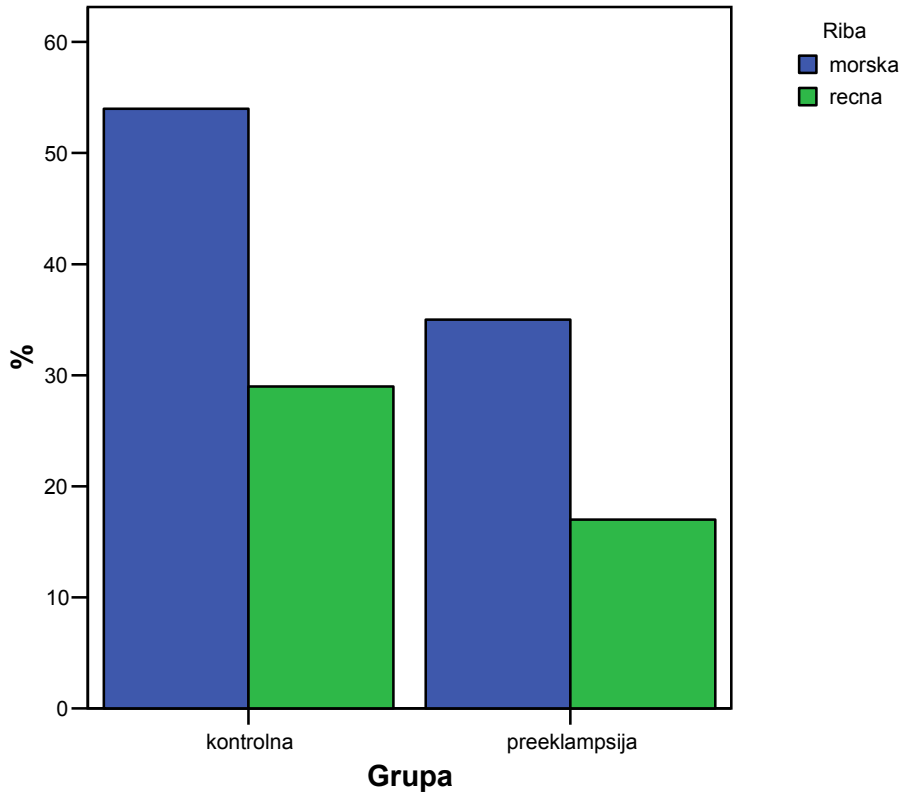
Дистрибуција пацијенткиња по групама у зависности да ли уносе рибу или не приказана је у табели 17.

Табела 17. Морска и речна риба

Група	Морска риба	Речна риба
контролна	15(53.6)	8(28.6)
прееклампсија	10(34.5)	5(17.2)
Укупно	25 (43.9)	13(22.8)
Резултат тестирања	X^2=2.108 п=0.147	X^2=1.039 п=0.308

Из табеле се види да само половина укупног броја испитаница конзумира морску рибу, док само четвртина конзумира речну рибу. Иако разлике нису статистички значајне, из табеле се види да је проценат испитаница са прееклампсијом које конзумирају морску или речну рибу мањи од процента испитаница контролне групе.

Резултати су и графички приказани (Графикон 7).



Узимајући у обзир само испитанице које конзумирају рибу, анализирана је разлике између испитиваних група по количини унете рибе.

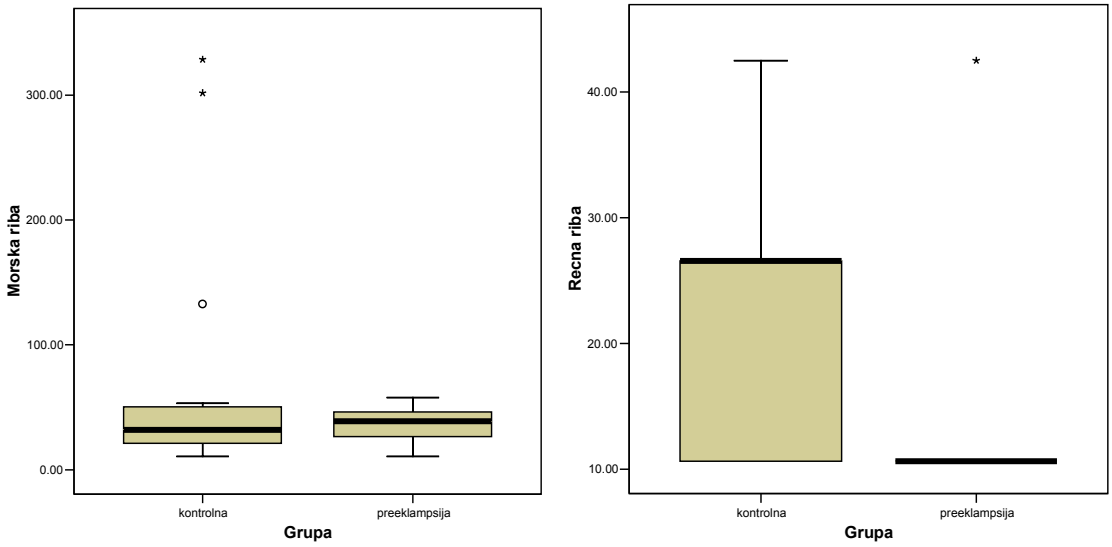
Дескриптивна статистика и резултати међугрупног тестирања приказани су у табели 18.

Табела 18.Морска и речна риба

	Група	Аритметичка средина	СД	Медиан	Минимум	Максимум	Резултати тестирања
Морска риба	контролна	74.7	102.0	31.8	10.6	328.5	З=-0.028 п=0.978
	преeклампсија	36.2	13.9	38.9	10.6	57.8	
	Укупно	59.3	80.7	37.6	10.6	328.5	
Рецна риба	контролна	22.5	11.2	26.5	10.6	42.5	З=-1.053 п=0.292
	преeклампсија	17.0	14.2	10.6	10.6	42.5	
	Укупно	20.4	12.2	10.6	10.6	42.5	

Из табеле се види да су просечне вредности далеко мање у групи испитаница са прееклампсијом, али пошто се ради о малим узорцима, а и варијабилитет је различит (првенствено за морску рибу), разлике нису статистички значајне.
Резултати су и графички приказани (Графикон 8).

Графикон 8. Морска и речна риба



Дијатарни унос осталих врста намирница

Тестирањем уноса осталих значајних група намирница богатих масним киселинама нису пронађене статистички значајне разлике код испитаница са прееклампсијом у односу на контролну групу.Уочава се да су индивидуалне разлике у уносу у самим групама велике (на основу минималних и максималних вредности). У табели бр.19 на основу резултата можемо боље сагледати унос најзначајнијих извора масти тј. одређених класа (SFA,MUFA, PUFA) и појединачних масних киселина (нпр.маслиново уље као извор олеинске киселине).

Табела19. Дијатарни унос група намирница испитаница са прееклампсијом и иконтролне групе

	Прееклампсија			Контрола		
g/7 дана	медиана	мин	мах	медиана	мин	мах
Млечни производи	664,1	41,4	3562,5	1475	25	5070,2
Месо	768,7	75	3050	468,7	75	1556,2
Месне прерађевине	158,8	25	1516,5	152,5	25	690,9
Маслиново уље	10,9	3,3	94,5	33,7	3,3	94,5
Друга уља	87,7	3,3	236,2	94,5	3,3	189
Свињска маст	8	3,2	89,6	32	8	64
Скробно поврће	900	190,6	2805	755,6	31,2	3525
Остало поврће	877,5	156,25	1986	1040,5	285,6	2816,2
Цитруси	910	91	2548	637	22,75	1911
Банане	270	54	1512	270	27	1620
Јабуке	630	31,5	1890	630	31,5	2646
Ораси+кикирики	12	0,3	378	18	3	114
Чоколада	100	5	1400	75	1	500

Резултати анализе маснокиселинског профила фосфолипида еритроцита

Поред одређивања дијетарног уноса масти методом валидираних дијетарних анкета, анализирани су и профили масних киселина у еритроцитима трудница са прееклампсијом и у трудница контролне групе.

Упоређивање пацијенткиња са прееклампсијом и без прееклампсије

Киселине 16:0, 18:0 и SFA

Дескриптивна статистика и резултати међугрупног тестирања пацијенткиња са прееклампсијом и пацијенткиња контролне групе у односу на киселине 16:0, 18:0 и SFA приказана је у табели 20.

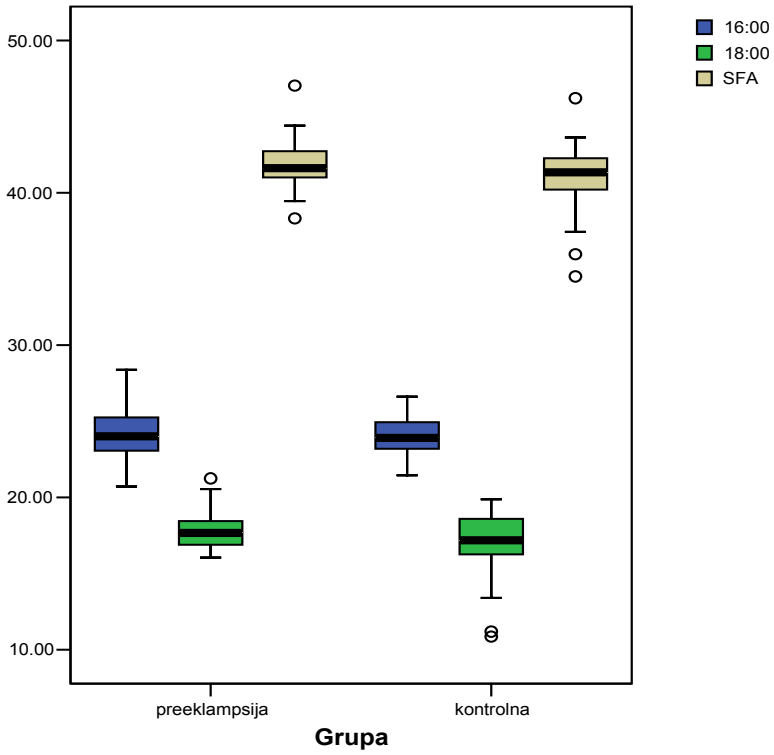
Табела 20. Киселина 16:0, 18:0 и SFA

	Група	Аритметичка средина	СД	Медиан	Минимум	Максимум	Резултати тестирања
16:0 (%)	прееклампсија	24.04	1.74	24.01	20.71	28.38	т=0.052 п=0.959
	контролна	24.02	1.39	23.90	21.45	26.61	
	Укупно	24.03	1.56	23.90	20.71	28.38	
18:0 (%)	прееклампсија	17.81	1.30	17.66	16.04	21.24	З=-1.080 п=0.280
	контролна	16.91	2.34	17.18	10.86	19.87	
	Укупно	17.35	1.94	17.36	10.86	21.24	
SFA (%)	прееклампсија	41.85	1.77	41.62	38.32	47.04	т=1.483 п=0.145
	контролна	40.93	2.51	41.34	34.51	46.21	
	Укупно	41.38	2.20	41.53	34.51	47.04	

Из табеле се види да су просечне вредности врло сличне у обе групе пацијенктиња, а тестирањем је потврђено да разлика није статистички значајна између испитиваних група по овим киселинама.

Резултати су и графички приказани (Графикон 9).

Графикон 9. Киселина 16:0, 18:0 и SFA



Киселине 16:1n-7 ,18:1 n-9+n-7, MUFA

Аналогно претходним киселинама, урађена је анализа и дескрипција наведених киселина и резултати међугрупног поређења су приказани у табели 21.

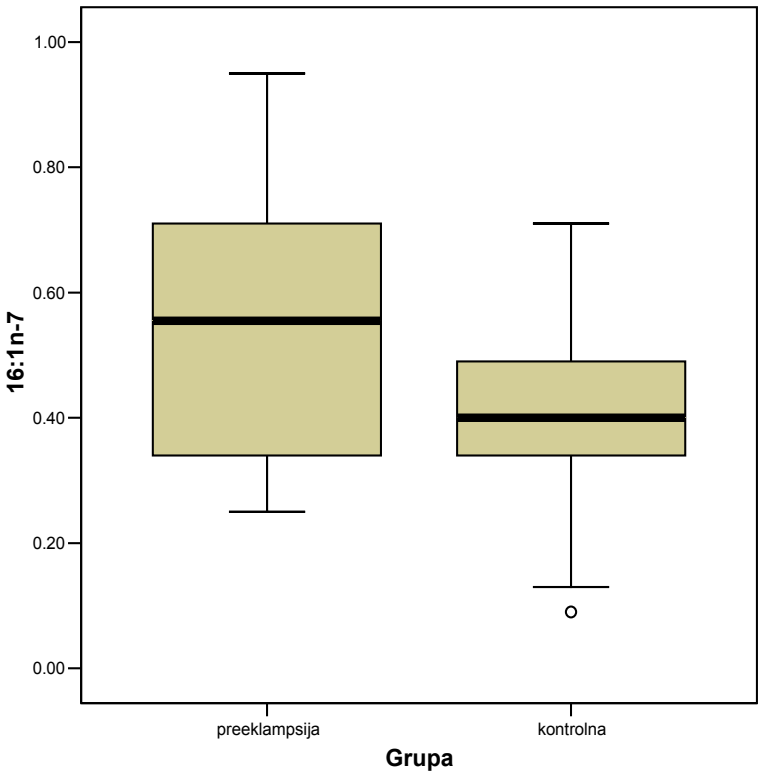
Табела 21. Киселине 16:1n-7 , 18:1 n-9+n-7, MUFA

	Група	Аритметичка средина	СД	Медиан	Минимум	Максимум	Резултати тестирања
16:1n-7 (%)	преeклампсија	.55	.21	.55	.25	.95	т=2.993 п=0.005
	контролна	.40	.13	.40	.09	.71	
	Укупно	.47	.19	.43	.09	.95	
18:1 n-9+n-7 (%)	преeклампсија	16.96	1.39	16.87	14.38	20.77	т=1.939 п=0.059
	контролна	16.28	1.02	16.37	13.16	17.98	
	Укупно	16.61	1.25	16.62	13.16	20.77	
МУФА (%)	преeклампсија	17.51	1.40	17.45	14.86	21.07	т=2.385 п=0.021
	контролна	16.68	1.01	16.73	13.56	18.48	
	Укупно	17.09	1.27	16.97	13.56	21.07	

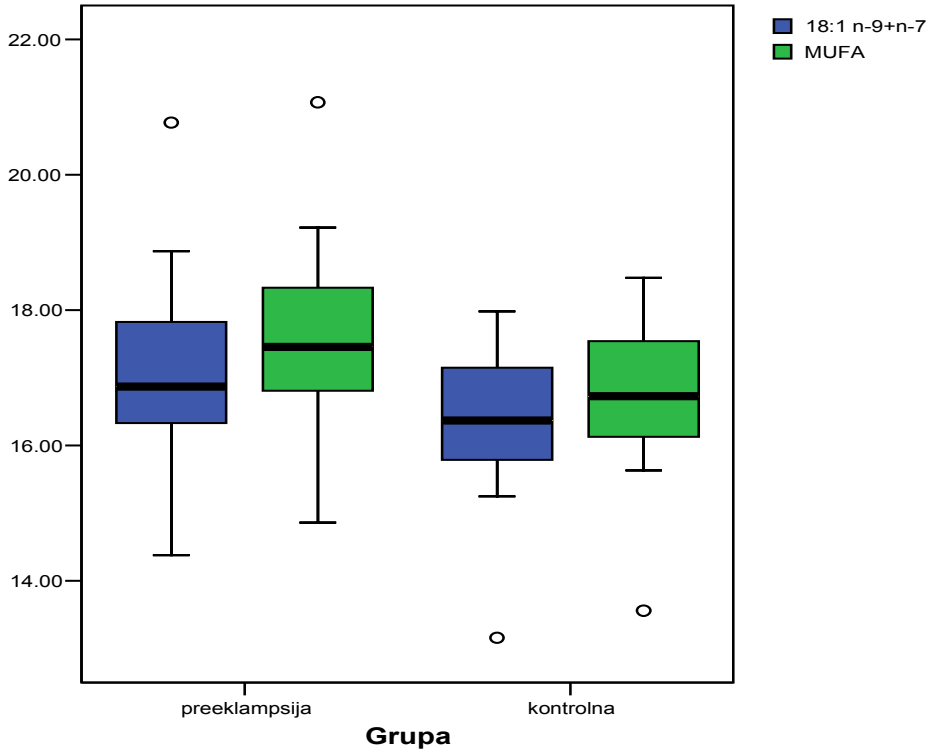
Из табеле се види да су просечне вредности све три киселине веће у групи пацијенткиња са преeклампсијом, с тим што су разлике у првој и трећој статистички значајне. У другој групи би разлику могли да прогласимо статистички значајном уколико би се ниво грешке померио за 1%, пошто је сигнификантност 0.059 а конвенционални ниво значајности је 0.05.

Резултати су и графички приказани (Графикони 10 и 11).

Графикон 10. 16:1n-7



Графикон 11. 18:1 n-9+n-7 и MUFA



Киселине 18:2n-6 ,20:3n-6, 20:4n-6, 22:4n-6, n-6

У следећој табели (Табела 22) приказана је дескриптивна и аналитичка статистика наведених киселина по групама пацијенткиња и укупно.

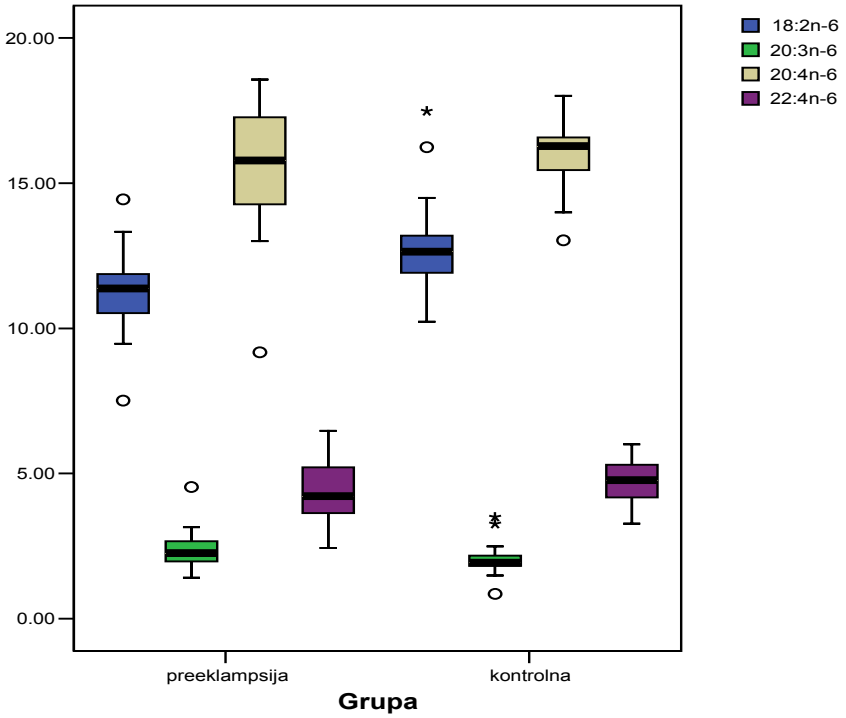
Табела22. 18:2n-6 ,20:3n-6, 20:4n-6, 22:4n-6, n-6

	Група	Аритметичка средина	СД	Медиан	Минимум	Максимум	Резултати тестирања
18:2n-6 (%)	преeклампсија	11.18	1.35	11.37	7.51	14.44	т=-3.862 п<0.001
	контролна	12.80	1.56	12.64	10.23	17.48	
	Укупно	12.01	1.66	11.91	7.51	17.48	
20:3n-6 (%)	преeклампсија	2.37	.63	2.25	1.41	4.53	т=1.865 п=0.068
	контролна	2.06	.51	1.93	.85	3.50	
	Укупно	2.21	.59	2.12	.85	4.53	
20:4n-6 (%)	преeклампсија	15.60	2.08	15.78	9.17	18.57	т=-0.734 п=0.468
	контролна	15.95	1.18	16.28	13.03	18.01	
	Укупно	15.78	1.67	16.12	9.17	18.57	
22:4n-6 (%)	преeклампсија	4.37	.94	4.22	2.43	6.47	т=-1.326 п=0.191
	контролна	4.69	.75	4.77	3.27	6.00	
	Укупно	4.53	.86	4.46	2.43	6.47	
n-6 (%)	преeклампсија	33.5	2.4	33.7	28.4	37.0	т=-2.969 п=0.005
	контролна	35.5	2.2	35.0	31.3	41.6	
	Укупно	34.5	2.5	34.3	28.4	41.6	

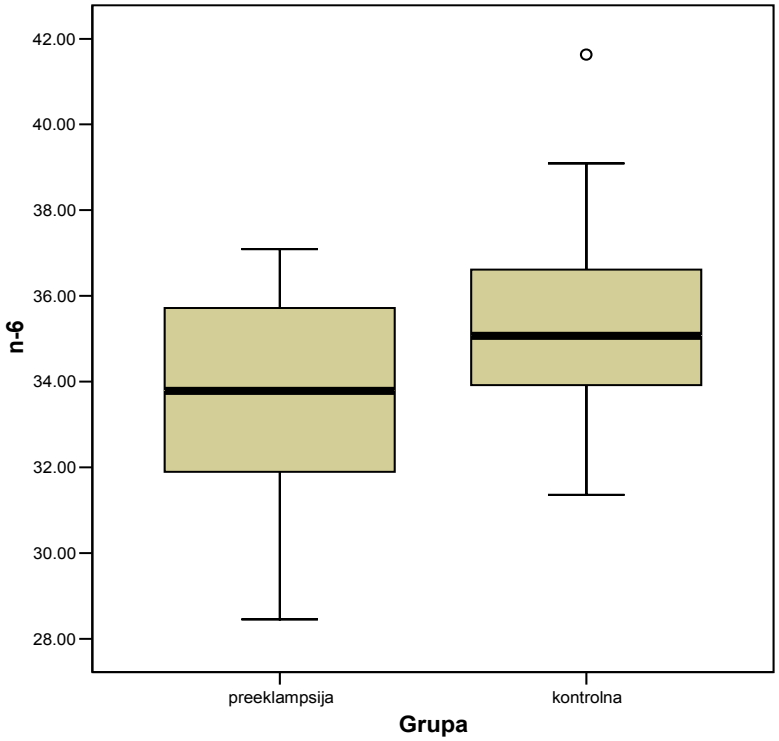
Из табеле се види да се просечне вредности 18:2n-6 и n-6 статистички значајно разликују и у оба случаја су веће у контролној групи. За 20:3n-6 просечне вредности су веће у преeклампсији али разлика није значајна на конвенционалном нивоу значајности од 0.05, али уколико би ниво грешке повећали за 2%, ову разлику би могли да сматрамо значајном. Просечне вредности код 20:4n-6 и 22:4n-6 су врло сличне и разлике нису статистички значајне.

Резултати су и графички приказани (Графикони 12 и 13).

Графикон 12. 18:2n-6 , 20:3n-6, 20:4n-6, 22:4n-6



Графикон 13. n-6



Киселине 18:3n-3, 20:5n-3, 22:5n-3, 22:6n-3, n-3

Дескриптивна статистика и анализа међугрупних разлика киселина 18:3n-3, 20:5n-3, 22:5n-3, 22:6n-3 и n-3 приказана је у табели 23.

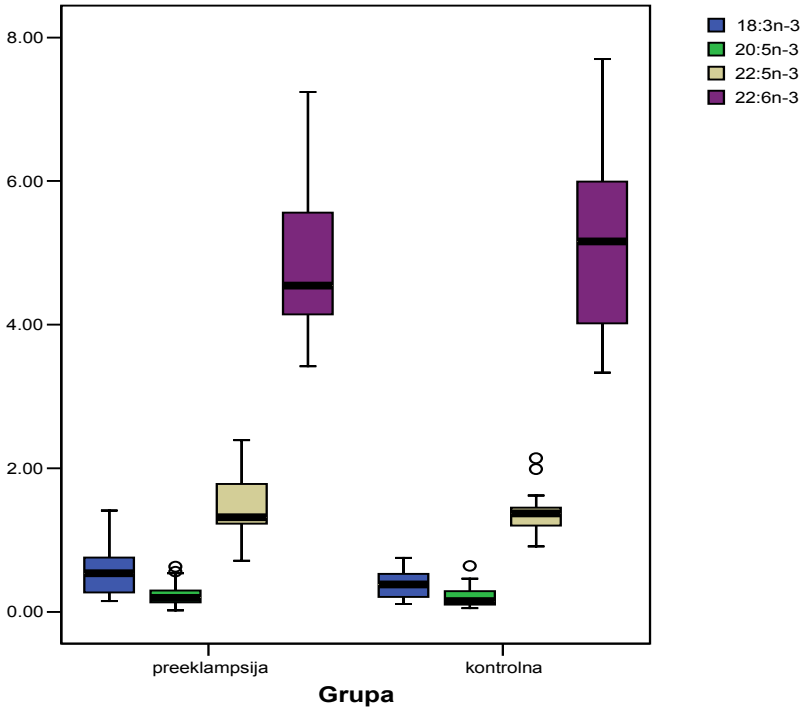
Табела 23. 18:3n-3, 20:5n-3, 22:5n-3, 22:6n-3, n-3

	Група	Аритметичка средина	СД	Медиан	Минимум	Максимум	Резултати тестирања
18:3n-3 (%)	преeклампсија	.55	.33	.54	.15	1.41	З=-1.922 п=0.055
	контролна	.38	.20	.38	.11	.75	
	Укупно	.46	.28	.43	.11	1.41	
20:5n-3 (%)	преeклампсија	.23	.15	.19	.02	.63	З=-1.081 п=0.280
	контролна	.20	.14	.15	.05	.64	
	Укупно	.21	.15	.16	.02	.64	
22:5n-3 (%)	преeклампсија	1.44	.39	1.32	.71	2.39	З=-0.510 п=0.610
	контролна	1.36	.28	1.37	.91	2.14	
	Укупно	1.40	.34	1.36	.71	2.39	
22:6n-3 (%)	преeклампсија	4.84	1.08	4.54	3.42	7.24	З=-0.430 п=0.667
	контролна	5.02	1.24	5.16	3.33	7.70	
	Укупно	4.93	1.16	4.61	3.33	7.70	
n-3 (%)	преeклампсија	7.08	1.54	6.81	5.09	9.83	З=-0.380 п=0.704
	контролна	6.97	1.59	6.89	4.54	10.49	
	Укупно	7.03	1.55	6.83	4.54	10.49	

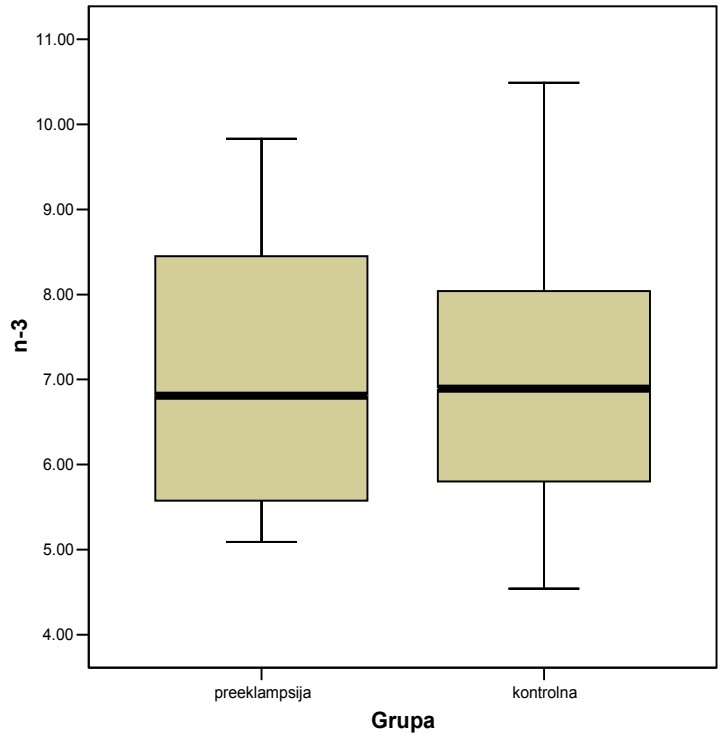
Из табеле се види да је једино 18:3n-3 разлика близу статистичке значајности на конвенционалном нивоу од 0.05 па ако повећамо ниво грешке за 1% можемо ову разлику сматрати значајном, док остале киселине имају сличне просечне вредности и медијане и разлике нису статистички значајне.

Резултати су и графички приказани (Графикони 14 и 15).

Графикон 14. 18:3n-3, 20:5n-3, 22:5n-3, 22:6n-3



Графикон 15. n-3



n-6/n-3 и PUFA

Дескриптивна статистика и анализа међугрупних разлика киселина n-6/n-3 и PUFA приказана је у табели 24.

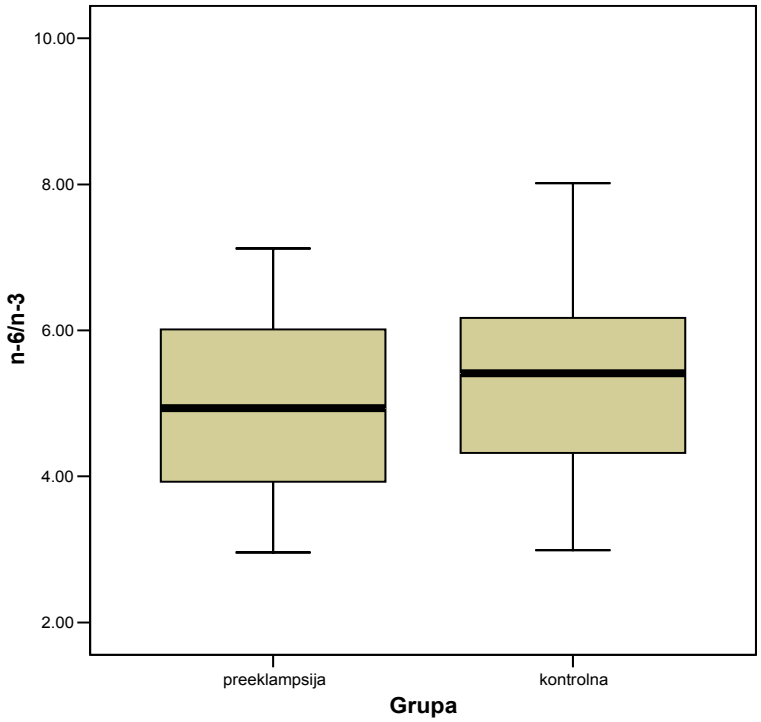
Табела 24.n-6/n-3 и PUFA

	Група	Аритметичка средина	СД	Медиан	Минимум	Максимум	Резултати тестирања
n-6/n-3	преeклампсија	4.9764	1.23525	4.9353	2.96	7.12	т=-1.092 п=0.281
	контролна	5.3838	1.37011	5.4120	2.99	8.02	
	Укупно	5.1843	1.30847	4.9785	2.96	8.02	
PUFA (%)	преeклампсија	40.6213	2.18849	40.9650	34.47	44.35	т=-2.875 п=0.006
	контролна	42.4940	2.36263	42.0800	38.32	47.51	
	Укупно	41.5767	2.44554	41.5500	34.47	47.51	

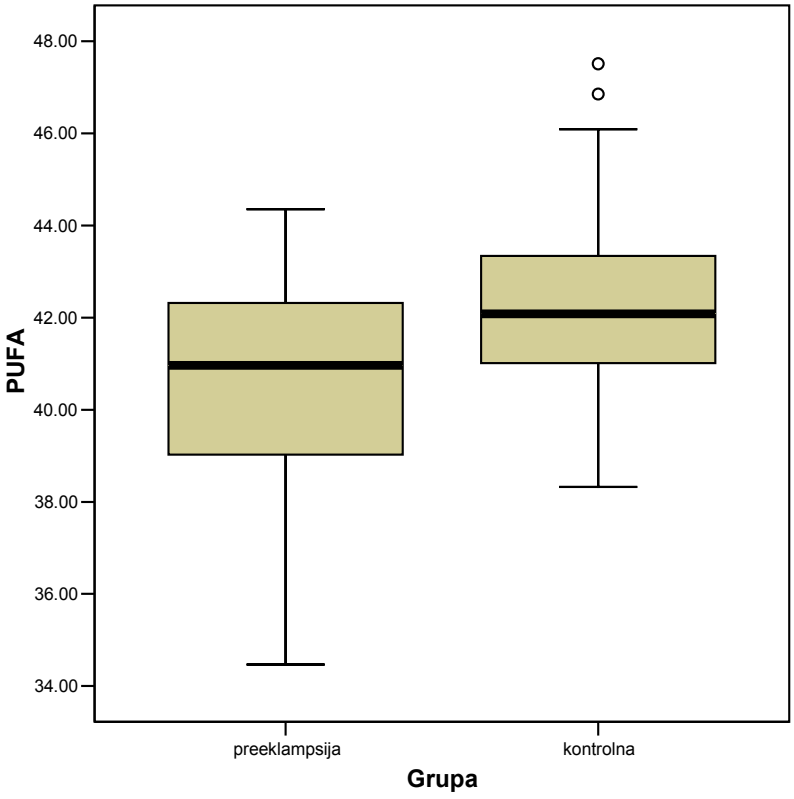
Из табеле 24 се види да нема статистички значајне разлике између група по n-6/n-3 и просечне вредности су врло сличне, али постоји статистички значајна разлика између група по PUFA.

Резултати су и графички приказани (Графикони 16 и 17).

Графикон 16. n-6/n-3



Графикон 17.PUFA



Упоредна анализа МК профила фосфолипида еритроцита код парова мајка-бебе и поређење статуса МК фосфолипида еритроцита беба испитаница са прееклампсијом и здравиих испитаница у циљу утврђивања улоге постељице.

У даље анализе ушло је укупно 30 јединица посматрања од чега су 16 бебе испитаница са прееклампсијом и 14 бебе испитаница контролне групе.
Урађене су исте анализе као и код мајки наведених група.

А) Упоредна анализа маснокиселинских профила фосфолипида еритроцита код парова мајка-бебе

Да би утврдили да ли постоје разлике у просечним вредностима заступљености испитиваних масних киселина у фосфолипидима еритроцита мајки и беба рађена је АНОВА поновљених мерења.
Ради лакше прегледности, у првој табели дата је дескриптивна статистика (аритметичке средине и СД) паралелно за мајке и бебе за сваку киселину.

Табела 25. Дескриптивна статистика масних киселина за мајке и децу

		Мајке		Деца	
	Група	Аритметичка средина	СД	Аритметичка средина	СД
16:0 (%)	преeклампсија	23.9	1.8	29.0	2.7
	контролна	23.5	1.2	27.1	3.9
	Укупно	23.7	1.5	28.1	3.4
18:0 (%)	преeклампсија	17.4	1.1	15.0	2.5
	контролна	16.4	2.7	17.2	2.1
	Укупно	16.9	2.0	16.1	2.5
СФА (%)	преeклампсија	41.4	1.3	44.1	1.9
	контролна	40.0	2.5	44.4	4.5
	Укупно	40.7	2.0	44.2	3.4
16:1n-7 (%)	преeклампсија	.59	.21	.70	.25
	контролна	.39	.15	.68	.17
	Укупно	.50	.21	.69	.21
18:1 n-9+n-7 (%)	преeклампсија	16.9	1.4	15.4	1.3
	контролна	16.5	1.1	15.7	1.5
	Укупно	16.7	1.3	15.5	1.4
MUFA (%)	преeклампсија	17.5	1.4	16.1	1.4
	контролна	16.9	1.1	16.4	1.6
	Укупно	17.2	1.3	16.2	1.4
18:2n-6 (%)	преeклампсија	11.4	1.2	6.5	1.9
	контролна	12.8	2.0	5.3	.7
	Укупно	12.1	1.7	5.9	1.5
20:3n-6 (%)	преeклампсија	2.31	.48	3.22	.62
	контролна	1.98	.57	3.17	.79
	Укупно	2.15	.54	3.19	.70
20:4n-6 (%)	преeклампсија	15.5	2.2	19.5	1.7
	контролна	15.7	1.3	20.1	2.8
	Укупно	15.6	1.8	19.8	2.3
22:4n-6 (%)	преeклампсија	4.20	.712	4.56	.71
	контролна	4.81	.66	4.85	1.46
	Укупно	4.50	.74	4.70	1.13
n-6 (%)	преeклампсија	33.4	2.2	33.9	2.1
	контролна	35.4	2.6	33.4	4.5
	Укупно	34.4	2.6	33.7	3.4
18:3n-3 (%)	преeклампсија	.69	.33	.24	.16
	контролна	.43	.20	.32	.15

	Укупно	.56	.30	.28	.16
	преeклампсија	.26	.14	.23	.21
20:5n-3(%)	контролна	.22	.16	.17	.20
	Укупно	.24	.15	.20	.21
	преeклампсија	1.50	.38	.52	.20
22:5n-3 (%)	контролна	1.43	.32	.38	.11
	Укупно	1.46	.35	.45	.17
	преeклампсија	5.11	.97	4.81	1.42
22:6n-3 (%)	контролна	5.43	1.24	4.75	1.30
	Укупно	5.26	1.10	4.78	1.34
	преeклампсија	7.57	1.34	5.81	1.41
n-3 (%)	контролна	7.52	1.61	5.63	1.25
	Укупно	7.54	1.45	5.72	1.32
	преeклампсија	4.56	.89	6.08	1.22
n-6/n-3	контролна	4.97	1.38	6.10	.94
	Укупно	4.76	1.15	6.09	1.07
	преeклампсија	41.0	2.3	39.7	2.5
PUFA	контролна	42.9	2.5	39.1	5.4
	Укупно	41.9	2.6	39.4	4.1

Анализа варијансе поновљених мерења урађена је да се утврди да ли постоји значајна разлика између вредности кисеилна код свих пацијенткиња заједно и да ли постоји утицај преeклампсије на разлику између мајки и деце.

Табела 26. Резултати тестирања АНОВА поновљених мерења

Киселина	Сви/Интеракција	Ф	п	Ета^2
16:0 (%)	Киселина	52.273	.000	.659
	Киселина * група	1.640	.211	.057
18:0 (%)	Киселина	3.256	.082	.108
	Киселина * група	12.639	.001	.319
SFA (%)	Киселина	34.737	.000	.563
	Киселина * група	1.845	.186	.064
16:1 n-7(%)	Киселина	14.191	.001	.345
	Киселина * група	2.886	.101	.097
18:1 n-9+n-7(%)	Киселина	12.085	.002	.309
	Киселина * група	1.068	.310	.038
MUFA (%)	Киселина	8.117	.008	.231
	Киселина * група	1.664	.208	.058
18:2n-6(%)	Киселина	292.411	.000	.915
	Киселина * група	13.058	.001	.326
20:3n-6(%)	Киселина	59.551	.000	.688
	Киселина * група	1.098	.304	.039
20:4n-6(%)	Киселина	76.936	.000	.740
	Киселина * група	.093	.762	.003
22:4n-6(%)	Киселина	.891	.353	.032
	Киселина * група	.622	.437	.023
n-6(%)	Киселина	1.887	.181	.065
	Киселина * група	4.506	.043	.143
18:3n-3(%)	Киселина	21.620	.000	.445
	Киселина * група	7.982	.009	.228
20:5n-3(%)	Киселина	.719	.404	.026
	Киселина * група	.114	.739	.004
22:5n-3(%)	Киселина	214.250	.000	.888
	Киселина * група	.221	.642	.008
22:6n-3(%)	Киселина	2.597	.119	.088
	Киселина * група	.390	.537	.014
n-3(%)	Киселина	23.516	.000	.466
	Киселина * група	.031	.862	.001
n-6/n-3	Киселина	21.031	.000	.438
	Киселина * група	.463	.502	.017
PUFA(%)	Киселина	11.006	.003	.290
	Киселина * група	2.571	.120	.087

Резултати АНОВА теста показали су да постоји статистички значајна разлика код свих испитаница заједно за повећање заступљености масних киселина 16:0, укупних SFA , 16:1n-7, 20:3n-6, 20:4n-6, и односа n-6/n-3, као и смањене заступљености масних киселина 18:1n-9+n-7, укупних MUFA, 18:2n-6, 18:3n-3, 22:5n-3, укупних n-3, укупних PUFA у фосфолипидима еритроцита код беба у односу на мајке. За масне кисеелине 18:0, 18:2n-6, укупне n-6 і 18:3 n-3 утврђено је да постоји статистички значајан утицај групе на пронађене разлике у заступљености између беба у односу на мајке.

Приказано је тестирање корелација заступљености мсних киселина масних киселина мајки и беба у фосфолипидима еритроцита код свих испитаника заједно у табели 27.

Tabela 27. Коелација заступљености МК мајки и беба

КИСЕЛИНА	Тестирање повезаности	
	r	p
16:0 (%)	.330	.080
18:0 (%)	.259	.174
SFA (%)	.359	.056
16:1 n-7 (%)	.041	.832
18:1 n-9+n-7 (%)	.140	.468
MUFA (%)	.142	.463
18:2n-6 (%)	.049	.802
20:3n-6 (%)	.341	.070
20:4n-6 (%)	.283	.136
22:4n-6 (%)	.365	.052
n-6 (%)	**.466**	**.011**
18:3n-3 (%)	-.116	.551
20:5n-3 (%)	.090	.644
22:5n-3 (%)	.182	.344
22:6n-3 (%)	.134	.488
n-3 (%)	-.019	.920
n-6/n-3	.047	.809
PUFA (%)	.248	.194

Како је АНОВА тестом утврђено да и групе утичу на разлике у маснокиселинским саставима у паровима мајка-беба,приказано је тестирање постојања корелација по испитиваним групама у табели 28.

Табела 28.Тестирање корелација између заступљености масних киселина фосфолипида еритроцита мајки и беба по групама

КИСЕЛИНА	Прееклампсија		Контрона	
	Тестирање повезаности		Тестирање повезаности	
	r	p	r	p
16:0 (%)	**.517**	**.048**	.138	.639
18:0 (%)	.012	.967	**.719**	**.004**
SFA (%)	-.065	.818	.517	.058
16:1 n-7 (%)	.041	.886	-.004	.990
18:1 n-9+n-7 (%)	.043	.878	.311	.280
MUFA (%)	.008	.977	.375	.187
18:2n-6 (%)	.266	.338	.352	.217
20:3n-6 (%)	.198	.480	.454	.103
20:4n-6 (%)	.120	.669	.528	.052
22:4n-6 (%)	.036	.899	**.558**	**.038**
n-6 (%)	.095	.735	**.737**	**.003**
18:3n-3 (%)	.086	.760	-.183	.531
20:5n-3(%)	.119	.672	.030	.919
22:5n-3 (%)	.215	.441	.027	.926
22:6n-3(%)	.353	.196	-.053	.857
n-3(%)	.156	.580	-.200	.493
n-6/n-3	.004	.988	.090	.760
PUFA (%)	-.103	.714	.514	.060

Тестирањем повезаности заступљености масних киселина у паровима мајка-беба показано је да постоје статистички значајне корелације за заступљеност укупних n-6 PUFA. Анализа постојања повезаности по групама показала је да постоји корелација између заступљености МК 16:0 код парова мајка- беба у групи испитаница са прееклампсијом и заступљености МК 18:0, 22:4n-6 и укупних n-6 код парова мајка-беба у контролној групи. Кад се повезаности аналиирају по групама уочава се да у групи испитаница са прееклампсијом не постоји корелација за укупне n-6 у испитиваним паровима мајка-беба.

B) <u>Поређење статуса МК фосфолипида еритроцита беба испитаница са прееклампсијом и беба испитаница контролне групе.</u>

Дескриптивна статистика (аритметичке средине и СД) за бебе за сваку киселину,као и поређење средњих вредности показала је да не постоје статистички значајне разлике заступљености како појединачних тако ни класа масних киселина (SFA, MUFA, PUFA). што је приказано у табели бр.29.

Табела 29.Поређење маснокиселинских профила фосфолипида еритроцита беба по групама

КИСЕЛИНА	Прееклампсија		Контролна		
	Aritm. sredina	sd	Aritm. sredina	sd	p-vrednost
16:0 (%)	29.0	2.7	27.1	3.9	0.237
18:0 (%)	15.0	2.5	17.2	2.1	0.058
СФА (%)	44.1	1.9	44.4	4.5	0.904
16:1 n-7 (%)	.70	.25	.68	.17	0.900
18:1 n-9+n-7 (%)	15.4	1.3	15.7	1.5	0.204
МУФА (%)	16.1	1.4	16.4	1.6	0.237
18:2n-6 (%)	6.5	1.9	5.3	.7	0.073
20:3n-6 (%)	3.22	.62	3.17	.79	0.820
20:4n-6 (%)	19.5	1.7	20.1	2.8	0.877
22:4n-6 (%)	4.56	.71	4.85	1.46	0.683
n-6 (%)	33.9	2.1	33.4	4.5	0.672
18:3n-3 (%)	.24	.16	.32	.15	0.193
20:5n-3(%)	.23	.21	.17	.20	0.474
4722:5n-3 (%)	.52	.20	.38	.11	0.076
22:6n-3(%)	4.81	1.42	4.75	1.30	0.790
n-3(%)	5.81	1.41	5.63	1.25	0.665
n-6/n-3	6.08	1.22	6.10	.94	0.928
ПУФА (%)	39.7	2.5	39.1	5.4	0.625

Резултати анализе антиоксидативне одбране

SOD

Упоредна анализа SOD-а по групама и по паровима мајке-бебе приказана је у табели 30.

Табела 30.

	Група	Аритметичка средина	СД	Медиан	Минимум	Максимум
SOD Мајке	преeклампсија	1394.1	464,5	1334.8	618.7	2623.5
	контролна	1810.5	559.6	1791.2	812.3	2996.2
	Укупно	1611.4	552.2	1543.2	618.7	2996.2
SOD Беба	преeклампсија	1152.4	565.2	1066.1	301.5	2294.0
	контролна	1841.9	480.2	1943.0	1087.0	2768.3
	Укупно	1512.1	623.1	1520.3	301.5	2768.3

Просечне вредности и медијане активности SOD су мање у групи испитаница са преeклампсијом у односу на испитанице контролне групе и код мајки и код деце. Mann-Whitney U тестом је утврђено да постоји статистичи значајна разлика у SOD активности у еритроцитима код мајки између група ($z=-2.463$; $p=0.014$). Разлика у активности SOD између група деце је такође високо статистички значајна ($z=-3.794$ $p<0.001$).

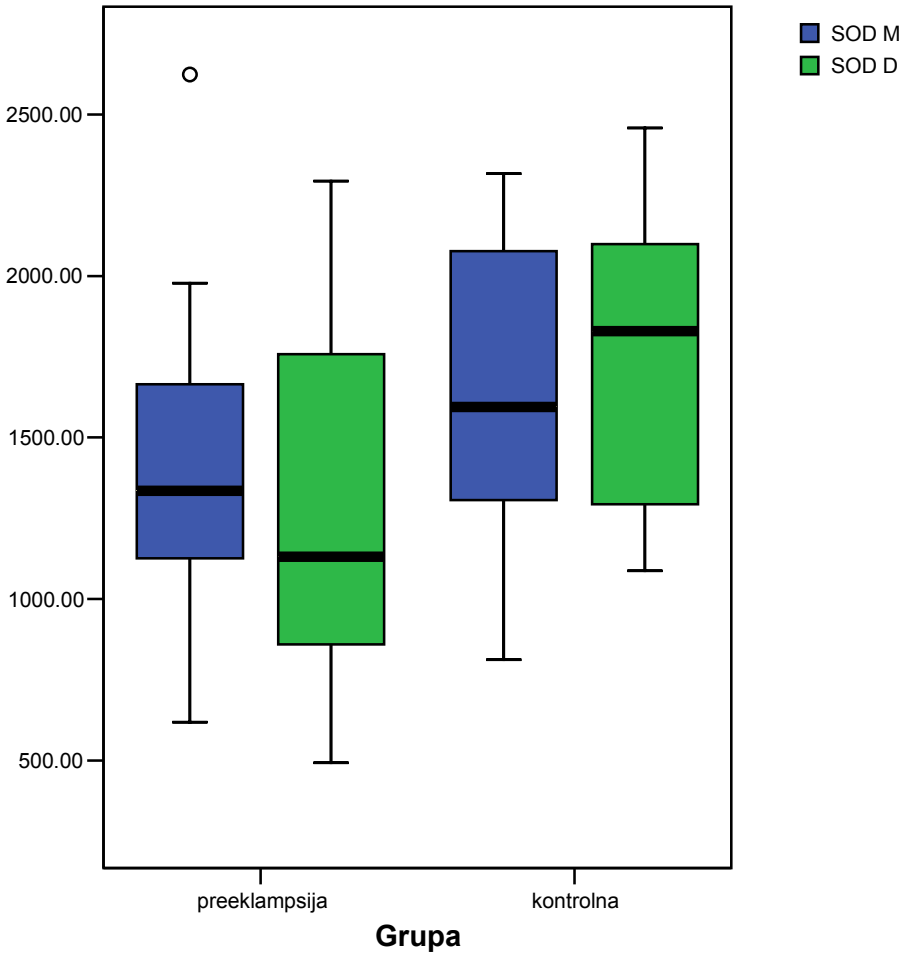
Када се анализира активност SOD (независно од група) утврђено је да нема статистички значајне разлике између мајки и деце, а и просечне вредности и медијане су врло сличне. Када се узорци поделе на групу са преeклампсијом и контролну групу утврђено је да нема статистички значајне разлике између мајки и беба са преeклампсијом ($z=-1.596$; $p=0.110$) као ни мајки и беба контролне групе ($z=-0.217$; $p=0.829$).

Корелационом анализом је утврђено да постоји статистички значајна разлика код свих пацијената заједно када се анализира активност SOD мајке и деце ($r=0.351$; $p=0.017$).

Када се иста анализа уради одвојено по групама утврђено је да нема статистички значајне повезаности код пацијенткиња са преeклампсијом ($r=-0.011$; $p=0.962$), као ни код пацијенктиња контролне групе ($r=0.155$; $p=0.300$)

Резултати међугрупног тестирања су и графички приказани на графикону 18.

Графикон18 : СОД



Каталаза

Аналогно SOD-у, на исти начин је анализирана и каталаза. Дескриптивна статистика каталазе по групама за мајке и децу приказана је у табели 31.

Табела 31. Каталаза

	Група	Аритметичка средина	СД	Медиан	Минимум	Максимум
Каталаза М	преeклампсија	466.6	213.0	512.9	94.6	821.5
	контролна	928.8	350.2	860.8	387.1	1809.3
	Укупно	707.8	372.0	709.6	94.6	1809.3
Каталаза Д	преeклампсија	415.6	88.5	438.2	287.4	573.5
	контролна	566.7	148.6	546.6	306.4	792.7
	Укупно	494.5	144.1	479.1	287.4	792.7

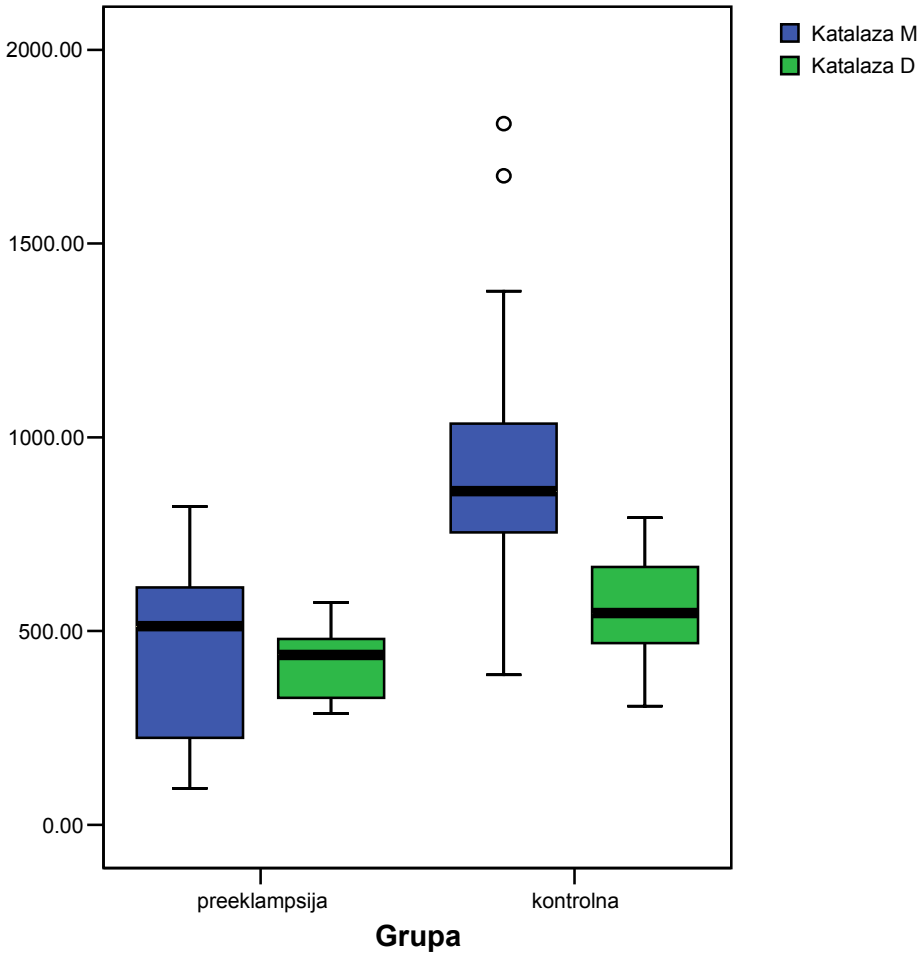
Из табеле се види да су просечне вредности и медијане код пацијенткиња са преeклампсијом мање него код пацијенткиња контролне групе. Када се резултати тестирају тестовима разлике утврђено је да постоји високо статистички значајна разлика између група код мајки ($t=-5.349$; $p<0.001$) и деце ($t=-4.228$; $p<0.001$).

Анализом варијансе поновљених мерења утврђено је да постоји високо статистички значајна разлика у каталази између мајки и деце ($F=20.537$; $p<0.001$; $Ета^2=0.318$), али постоји и статистички значајан утицај групе на ову разлику ($F=11.649$; $p<0.001$; $Ета^2=0.209$).

Разлика између мајки са преeклампсијом и њихове деце није статистички значајна ($p=0.433$), док је разлика између мајки контролне групе и њихове деце високо статистички значајна ($p<0.001$).

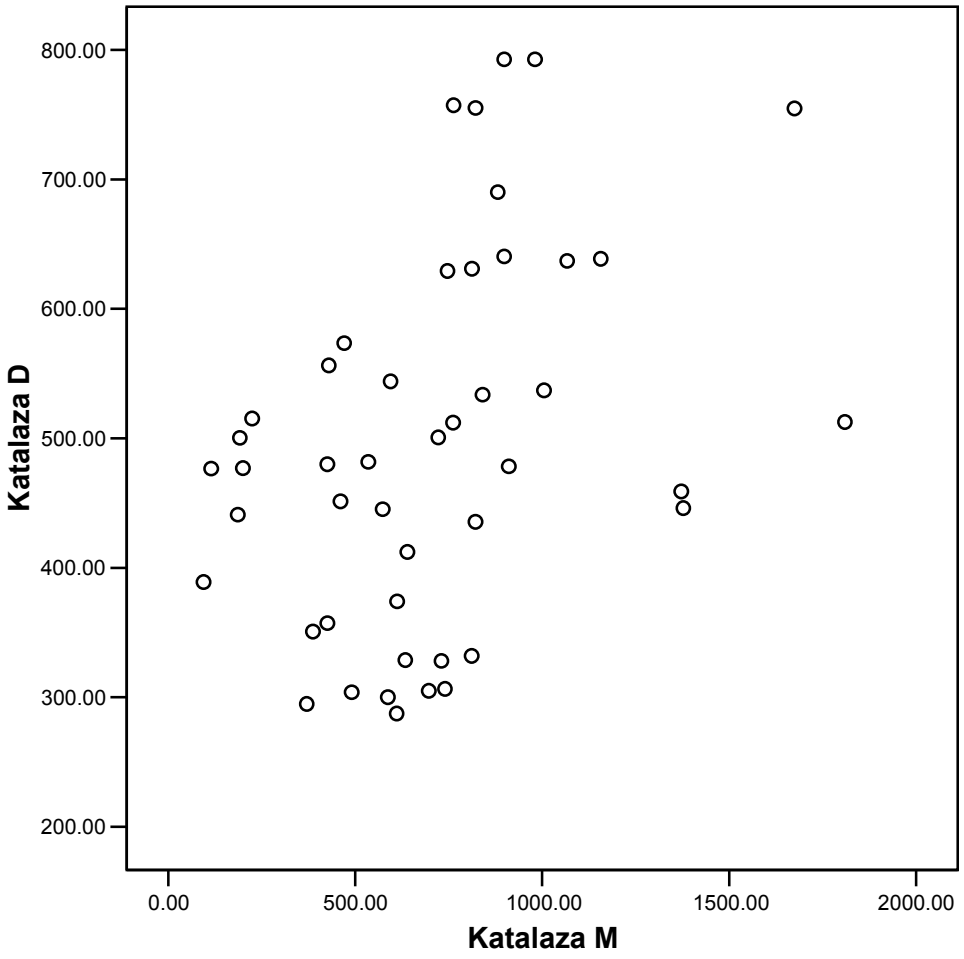
Резултати су и графички приказани (Графикон 19).

Графикон 19. Каталаза



Корелационом анализом је утврђено да постоји високо статистички значајна корелација између вредности каталазе мајки и деце независно од група (r=0.384; p=0.008). Корелација је и графички приказана (Графикон 20).

Графикон 20.



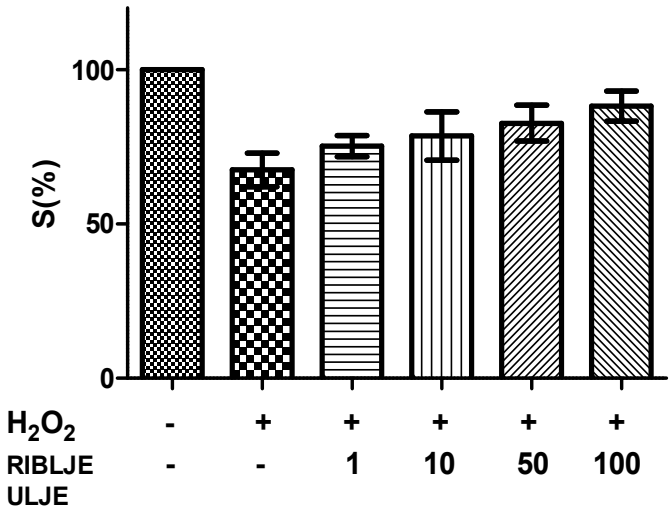
Када се узорак подели по групама, утврђено је да нема статистички значајне корелације код пацијенктиња са прееклампсијом и њихове деце (r=-0.385; p=0.077) и код пацијенткиња контролне групе и њихове деце (r=0.302; p=0.151).

Испитивање утицаја рибљег уља на преживљавање EA.hy926 ћелија третираних водоник пероксидом- *in vitro*

Резултати *in vitro* истраживања показали су да је након излагања EA.hy926 ћелија деловању водоних пероксида (300μM) у трајању од 12h проценат преживљавања у односу на нетретиране ћелије износио 67,56±5,4%.

Преинкубација EA.hy926 ћелија са различитим концентрацијама рибљег уља (1, 10, 50, 100 μл/мл) у трајању од 24h значајно је и дозно зависно утицала на преживљавање ћелија. Преживљавање ћелија претретираних са 1, 10, 50, 100 μг рибљег уља/мл износило је редом 75,27±3,4%, 78.5±7.8%, 82.7±5.9% и 88.2±4.9% (Графикон 21). На основу овога може се закључити да је рибље уље делује протективно на оштећење EA.hy926 ћелија, изазвано деловањем водоник пероксида.

Графикон 21.



Протективно деловање рибљег уља на преживљавање (S(%)) EA.hy926 ћелија при деловању водоник пероксида. Ea.hy926 ћелије су пре-инкубиране са рибљим уљем (1-100μг/мл) у периоду од 24h и након тога изложене деловању водоник пероксида (300μM) у периоду од 12h. Преживљавање је одређено MTT есејем. Резултати су приказани као

средње вредности ± стандардна девијација (xsr±SD) 3 независна експеримента*p<0,05; **p<0,01 у односу на ћелије третиране водоник пероксидом и #p<0,01у односу на контролне ћелије.

Резултати спектрофотометријског одређивања концентрације нитрита у плазми

Добијене вредности за апсорбанције стандард нитрита на 540nm (Табела 32) коришћене су за одређивање концентрације нитрита у узорцима плазме.

Табела 32. Подаци за калибрацију стандардима натријум нитрита

Концентрација натријум нитрита (mikromol/l)	Апсорбанца на 540nm
78	0.612
39	0.306
19.5	0.152

На основу одређених концентрација нитрита у плазмама испитаница са прееклампсијом у односу на плазме контролне групе трудница и t-тестом утврђено је да нема статистички значајних разлика између испитиваних група (p=0.958) (Табела 33).

Табела 33. Концентрације нитрита у плазми

	Контролна група	Испитанице са прееклампсијом
Концентрација нитрита (mikromol/l)	39.89±15.99	39.54±14.70

Добијени резултати за концентрације нитрита у плазми испитаница са прееклампсијом указују да су потребна даља испитивања да би се утврдила улога NO као медијатора у прееклампсији.

V ДИСКУСИЈА

5. ДИСКУСИЈА

Анализа дијетарног уноса

Иако је до сада показано да трудна жена не треба да једе за двоје, здрава и разноврсна исхрана, богата микро и макро нутријентима неопходна је и за мајку и за бебу. Главне нутритивне препоруке у трудноћи обухватају здраву балансирану исхрану засновану на уносу воћа, поврћа и угљених хидрата као што су хлеб, пиринач, кромпир итд. Здрава исхрана укључује и млечне производе као и намирнице богате протеинима (месо, рибу, јаја, махунарке,) као и ограничено конзумирање намирница богатих мастима и шећерима (93).

У нашој земљи до сада је рађено јако мало студија које су се бавиле одређивањем уноса микро и макронутијената помоћу FFQ упитника. У Великој Британији је спроведена Авон Лонгитудинална студија која је анкетирала око 12000 трудница помоћу FFQ упитника. Објављени резултати показују да је у Великој Британији унос микро и макро нутријената међу трудницама задовољавајући у свим групама намирница,сем уноса осим гвожђа, магнезијума и фолата чији је унос нижи од препорученог (102).

Повећане потребе за енергијом у трудноћи највише су засноване на повећаним потребама организма услед раста плода (103). Удруженим снагама експерата FAO/WHO/UNU на састанку одржаном 2001.године о Енергетским потребама човека објављен је извештај у коме је процењено да повећање енергетских потреба организма током трудноће варира у односу на период гестације и да у трећем триместру када су највеће потребе износи 321 MJ (77000 kcal) за цео триместар више у односу на уобичајене потребе односно да је повећање енергетских потреба по дану у трећем триместру 200 kcal. За труднице са великом физичком активношћу ово повећање износи 285 kcal.Укупне енергетске потребе у трећем триместру по дану се крећу око 2140 kcal (104).

У нашој студији из дневника уноса (FFQ) израчунато је да је просечан енергетски унос у обе групе (контролној и групи испитаница са прееклампсијом) знатно изнад препоручених дневних потреба. У контролној групи енергетски унос је 2693.3 kcal што је оквирно за једну четвртину већи од препорученог уноса док је у односу на групу испитаница са прееклампсијом енергетски унос повећан за 940 kcal у поређењу са препорученим

уносом што је за око 30% повећан унос у односу на препоручени. Овакви резултати показују да је исхрана испитиваних трудница неадекватна у смислу количине и врсте конзумираних намирница и да енергетски унос и у контролној групи и код испитаница са прееклампсијом далеко премашује препоручени дневни унос.

Укупне потребе за протеинима током целог периода трудноће процењене су на 925 g за жене које у периоду гестације добију 12.5 kg и чија беба на рођењу има око 3300 gr (105). Потребе за протеинима као и за енергијом нису константне током целог периода трудноће већ потребе за њиховим уносом расту са напредовањем трудноће. Процењено је да потребе за протеинима у току трудноће расту од 0.64 gr до 6.10 додатних грама протеина по дану у односу на физиолошке потребе жене сличне конституције која није трудна (106). Према подацима у Великој Британији за одрасле особе просечан унос протеина по дану износи 60 gr код жена старости од 19 до 25 године, а 59 gr по дану код жена чија је старост у распону од 25 до 34 године (107). Међутим, скорашње лонгитудиналне студије указују да је код жена у развијеним земљама (UK ,USA) препоручен укупни унос протеина током периода трудноће нешто нижи и креће се у опсегу од 497 до 696 грама рачунато на просечни прираштај у тежини током трудноће од 12 kg (108).

Резултати добијени у нашој студији указују да је у обе групе унос протеина већи од препорученог и то у групи испитаница са прееклампсијом унос протеина је 83.8 gr по дану, што је више од 20% већи унос од препорученог док је у контролној групи унос протеина 75,5 gr по дану,тако да је и у овој групи унос протеина преко 10% изнад препорученог.

Потребе за шећером, скробом и не-скробним полисахаридима (дијететским влакнима) током трудноће нису значајно повећане. Међутим, опстипација, која може бити повезана са смањеном покретљивошћу и мотилитетом гастроинтестиналног тракта, је честа током трудноће без обзира на гестацијску старост. Жене које уносе малу количину дијететских влакана могу стање опстипације ублажити повећањем уноса дијететских влакана за 12-24 gr по дану уз адекватан унос течности како би подстакле варење и нормалан рад црева (109).

Резултати указују да учеснице у студији имају недопустиво висок унос угљених хидрата по дану који је приближне вредности у обе групе и износи у контролној групи

292,8 gr, а у групи прееклампсије 311,9 gr дневно.За овакву слику углавном је заслужан велики унос чоколаде, колача, торти и сродних намирница као и унос хлеба и пецива.Труднице, као и жене које планирају трудноћу, неопходно је да узимају адекватну количину есенцијалних масних киселина (LA и ALA) као и њихових деривата DHA и AA због целокупног развоја плода и здравља мајке што је и главна тема овог истраживања.Према USDA препорукама унос укупних масноћа у трећем триместру трудноће треба да износи од 58 до 102 грама по дану. Међутим у обе испитиване групе овај унос је већи за преко 50% и то у контролној групи просечан унос укупних масноћа израчунат на основу података из упитника FFQ је 151 грам , док је у групи прееклампсије овај унос 161.4 грама по дану.

Однос уноса пожељних и непожељних масних киселина можемо илустровати уносом морске и речне рибе као примера главних извора есенцијалних МК на нашем подручју. Из приложених резултата уочљиво је да је унос рибе у нашем узорку такав да знатан број испитаница уопште не уноси ову намирницу. Услед тога испитанице су из практичног разлога подељене у две групе, оне које конзумирају рибу и оне које је уопште немају у исхрани, а затим су тестиране просечне количине унешене рибе само за пацијенткиње које уносе рибу. Добијени су резултати да само половина укупног броја пацијенткиња конзумира морску рибу, док само четвртина конзумира речну рибу и то у обе групе.Када су пацијенткиње подељене по групама у контролној групи 53,6% испитаница користи морску рибу у својој исхрани, док је у групи испитаница са прееклампсијом тај проценат још нижи и износи само 34% од укупног броја испитаница у овој групи. Поредећи даље унос речне рибе у испитиваним групама добијени су подаци да је само 28,6% испитаница контролне групе конзумира док је за групу испитаница са прееклампсијом тај проценат свега 17,2%. Иако разлике нису статистички значајне, из приложених резултата се види да је проценат пацијенткиња са прееклампсијом које конзумирају морску или речну рибу мањи од процента пацијенткиња контролне групе. Анализа просечне количине унете рибе (узимајући у обзир само пацијенткиње које конзумирају рибу) је показала да испитанице контролне групе узимају 74,7gr морске рибе по дану што је два пута већа количина у односу на испитанице у групи са прееклампсијом које конзумирају 36,2gr. У погледу конзумирања речне рибе разлика у уносу је несто нижа и износи 22,5gr по дану за контролну групу и 17gr за групу испитаница са прееклампсијом. Мада ове разлике нису статистички значајне евидентно је да

је унос рибе и то првенствено морске далеко већи међу испитаницама контролне групе у односу на групу са прееклампсијом.С обзиром да је риба основни извор DHA, очигледно је да у нашем поднебљу унос DHA није адекватан.Ови подаци посебно забрињавају када се узме у обзир да је DHA неопходна за правилан раст и развој мозга и ретине као и за когнитивни развој плода (110).

За разлику од рибе израчунати унос меса на основу дневника исхране показује да су испитанице групе са прееклампсијом далеко више конзумирале месо и месне прерађевине у односу на испитанице контролне групе и да је ова разлика високо статистички значајна (p=0.005). Наиме, просечан дневни унос меса и месних прерађевина у групи са прееклампсијом износи 834 грама док испитанице контролне групе конзумирају у просеку 495,7 грама меса.

Овако висок унос меса и месних прерађевина по дану у обе групе може се објаснити културолошким навикама и поднебљем у коме живимо као и сезонским начином исхране, а имајући у виду да је ово истраживање обављано у зимском периоду.Међутим,висок унос меса довео је до промена у МК профилу фосфолипида у еритроцитима трудница, што ће бити посебно дискутовано касније.

Што се тиче осталих намирница нису нађене статистичке значајне разлике у уносу код трудница са прееклампсијом и здравих трудница.Међутим, разлог за то лежи пре свега у великим индивидуалним варијацијама код обе групе испитаница услед чега је велика варијанса(или стандардна девијација).Када говоримо о маслиновом уљу, један број испитаница са прееклампсијом га никад не користи у исхрани, а иначе је унос овог уља знатно виши у групи здравих трудница.Оне такође у већој количини конзумирају и коштуњаво воће, које је такође важан извор корисних масних киселина и млечни производи су више заступљени у исхрани испитаница у контролној групи тј.здравих трудница.Унос воћа је сличан у обе групе (нешто већи унос цитруса забележен је у групи са прееклампсијом),док је поврће заступљеније у групи здравих трудница, мада ни те разлике нису статистички значајне.

На сличан начин као и претходне варијабле, апроксимацијом на основу дневника уноса израчунат је и холестерол унет храном и добијени су подаци да су испитанице у контролној групи унеле у просеку 281,6 mg, а у групи са прееклампсијом 332,6 mg холестерола кроз храну. Препоруке USDA је што мањи унос, и не би требало да прелази

300 mg дневно. Видимо да су здраве труднице уносиле холестерол испод максимално препорученог уноса али да су жене са прееклампсијом имале унос који прелази препоручену количину. Ипак, у литератури нема података о томе да унос холестерола на било који начин може да се повеже са настанком прееклампсије.

Анализа дијетарног упитника је недвосмислено показала да се труднице у нашој студији веома неправилно хране и то не само труднице са прееклампсијом, већ и контролна група.Унос енергије, протеина, а посебно угљених хидрата и масти је недопустиво висок, а унос масних киселина које су од највећег значаја за правилан раст и развој плода недовољан.С обзиром на неправилну исхрану контролне групе не можемо закључити да је исхрана главни узрок настанка прееклампсије, али уз друге факторе и исхрана вероватно делимично доприноси развоју ове болести. Дијетарне препоруке на почетку,а и у току целе трудноће могле би значајно допринети здрављу и мајке и новорођенчета.

Упоређивање маснокиселинских профила фосфолипида еритроцита пацијенткиња са прееклампсијом и групе контролних трудница

Један од циљева ове докторске дисертације био је да се упореде PUFA профили фосфолипида еритроцита трудница са прееклампсијом и здравих трудница које су чиниле контролну групу. Састав МК у еритроцитима је огледало вишемесечног уноса МК, али и ендогене синтезе која је у трудноћи измењена под утицајем хормона.С обзиром на велики број анализираних МК, ради прегледности су подељене у 4 групе (SFA, MUFA, n-3 PUFA, n-6 PUFA) које су одвојено приказане и дискутоване.

Поређењем маснокиселинских профила фосфолипида еритроцита групе трудница са преклампсијом и контролних трудница, утврђено је да се заступљеност укупних SFA и n-3 масних киселина не разликује по групама на нивоу статистичке значајности. Анализа резултата заступљености укупних MUFA и n-6 масних киселина показала је да је заступљеност 16:1n-7 и укупних MUFA повећана у фосфолипидима еритроцита трудница са прееклампсијом, док је заступљеност 18:2n-6, укупних n-6 и PUFA смањена у односу на групу контролних трудница. Није било разлике за односе заступљености n-6/n-3 поредећи испитиване групе.

Постоје два могућа узрока повећане заступљености MUFA код трудница са прееклампсијом. Први је повећани дијетарни унос MUFA.Ове масне киселине највише се налазе у маслиновом уљу и у уљу из уљане репице, међутим анализа тромесечног дијетарног упитника није показала разлике у уносу ових уља у две групе трудница. Штавише, број трудница које никада не користе у исхрани ни маслиново ни уље од уљане репице је знатно већи у групи са преекламсијом. Ипак, ова уља су пре свега извор олеинске киселине 18:1. Пошто се MUFA код трудница највише разликују у заступљености палмитолеинске киселине, узрок би могао да буде различит унос 16:1.Палмитолеинска киселина је највише заступљена у масном месу (93).

Месо и месне прерађевине представљају значајан извор свих мононезасићених масних киселина. Проценом дијетарног уноса на основу анкетних упитника пронађене су значајне разлике у дијетарном уносу ове групе намирница код трудница са прееклампсијом у односу на здраве труднице. Повећан дијетарни унос меса и месних прерађевина, као извора MUFA, у групи испитаница са прееклампсијом вероватан је узрок повећања 16:1n-7 и укупних MUFA у овој студији, као и тренда за пораст збирне заступљености 18:1n-9+18:1n-7.

Друга могућност је повећана активност Δ9 десатуразе.Овај ензим преводи засићене масне киселине палмитинску и стеаринску у мононезасићене палмитолеинску и олеинску киселину.Иако је у групи пацијенткиња са прееклампсијом детектован повећан унос меса, а тиме и SFA, проценат свих SFA у еритроцитима је веома сличан код обе групе трудница.Могуће је да је повећан унос SFA компензован и већом активношћу Δ9, мада то не можемо са сигурношћу да тврдимо с обзиром да активност овог ензима није испитивана у овој тези.

Повећана заступљеност 18:2n-6, повећала је и заступљеност укупних и n-6 PUFA у контролној групи.Линолна киселина је, као што је већ споменуто, есенцијална МК, дакле не може се синтетисати у организму. Због тога повећање линолне киселине у еритроцитима указује на повећану конзумацију ове МК, што је у овој тези нађено у групи здравих трудница.Анализа анкетног упитника није показала статистички значајну разлику у уносу сунцокретовог уља, као главног извора линолне киселине, у испитиваним групама. Међутим, с обзиром да су у еритроцитима одређиване процентуалне заступљености МК,нижи унос меса у контролној групи у односу на групу са

прееклампсијом,имплицира нижи унос MUFA (и/или SFA зависно од врсте меса), а то све доводи до већег процента линолне киселине чиме се компензује смањен удео MUFA. Уочене разлике за 18:2n-6, n-6 PUFA и укупне PUFA могле би битно утицати на флуидност мембрана у контролној групи, који је значајан за функционалност мембране.

Конзумирање морске и речне рибе и морских плодова уопште по литературним подацима је најзначајнији дијетарни извор дуголанчаних n-3 полинезасићених масних киселина (LC-PUFA) (111,112).Садржај n-3 LC-PUFA у фосфолипидима и плазме и еритроцита трудница корелира са дијетарним уносом n-3 LC-PUFA (113,114).

У неколико студија показано је да би повећани дијетарни унос n-3 LC-PUFA могао имати значај за превенцију развоја прееклампсије (115,116). Супротно томе, резултати мета анализе (117) која је обухватила 6 студија на 338 испитаника показали су да дијетарни унос n-3 LC-PUFA нема значаја за појаву прееклампсије код трудница. Студије у којима је испитиван n-3 LC-PUFA статус у еритроцитима у прееклампсији, показале су његов значај за инциденцу настанка прееклампсије (118,119,120), док у другима то није случај (121). У нашој студији поређењем дијетарног уноса морске и речне рибе (која такође садржи n-3 LC PUFA али у знатно мањој количини од морске рибе) нису нађене статистички значајне разлике између испитиваних група. Такође, поређењем МК профила еритроцита испитаница у овој студији утврђено да код испитиваних трудница, које све уносе мале количине рибе, нема разлике у заступљености n-3 LC-PUFA у фосфолипидима еритроцита трудница са прееклампсијом у односу на контролну групу.

Истраживања у сфери прееклампсије су показала да постоје промене у агрегацији тромбоцита и вазоконстрикцији (122), као и поремећен је однос тромбоксана TxA_2 у односу на простациклин I_2 код мајки и у плаценти (123). У студији Velizing-Aartsa (124) и сарадника показано је да у самим крвним судовима плаценте и тромбоцитима код трудница са прееклампсијом постоје промене у заступљености прекурсора синтезе еикозаноида, такве да фаворизују продукцију вазоконстрикторних и протромбогених еикозаноида. Међутим, у нашој студији заступљеност 20:4n-6, као прекурсора вазоконстриктивних еикозаноида не разликују се у групама испитаница. Такође, нема разлика ни у односу n-6/n-3 PUFA који је важан показатељ баланса серија 2 и 3 еикозаноида.У поређењу ових резултата са резутатима добијеним у нашем раду, треба узети у обзир да су наши резултати рађени на еритроцитима , што не значи да такве

промене не би биле нађене у тромбоцитима или крвним судовима плаценте.Могуће је да се промене дешавају на самим ткивима и тромбоцитима укљученим у продукцију еикозаноида и да се не могу уочити системске разлике на нивоу еритроцита.

Анализа маснокиселинских састава фосфолипида еритроцита код беба

Анализом маснокиселинских профила фосфолипида еритроцита бебе утврђено је да се они разликују у односу на маснокиселинске саставе фосфолипида еритроцита мајки и код прееклампсије и код здравих трудница.Ови резултати су од великог значаја јер указују да плацентна баријера штити фетус од евентуално неповољног маснокиселинског профила мајке.Посматрајући профиле МК у фосфолипидима еритроцита свих испитаника утврђено је да су статистички значајно повећане заступљености 16:0, укупних SFA, 16:1n-7, 20:3n-6, 20:4n-6 као и односа n-6/n-3 код беба у односу на њихове мајке, док су снижене заступљености 18:1n-9, укупних MUFA, 18:2n-6, 18:3n-3, 22:5n-3, укупне PUFA. ANOVA тестом утврђено је да и сама прееклампсија има утицаја на заступљености појединих МК, и то 18:0, 18:2n-6, укупне n-6 и 18:3n-3.

Поређењем маснокиселинских профила беба утврђено је да у групи прееклампсија постоји тренд повећања заступљености 18:2n-6 и смањења заступљености 18:0 у односу на контролну групу. После транспорта масних киселина кроз плаценту, не постоје више разлике у заступљености MUFA и n-6 масних киселина у фосфолипидима беба, која је постојала код њихових мајки,што потврђује значај постељице као баријере која фетус чува од штетних утицаја из крвотока мајке. Механизми који доводе до оваквих резутата још увек нису у потпуности разјашњени.

У литературу постоје подаци да транслоказе плаценте показују већи афинитет преноса есенцијалних масних киселина у односу на неесенцијалне (125). Познато је и да се у плаценти 22:6n-3 (DHA) брзо естерификују у триглицериде, док се 20:4n-6 (AA) депонује у фосфолипидима (125). Резултати ове студије указују да у фосфолипидима, као структурним липидима, долази до ''концентровања'' 20:4n-6 (AA) значајне за раст бебе код трудница чији је дијетарни унос рибе, као главног извора n-3 LC-PUFA мали. Ипак, у нашој студији ове разлике између беба нису нађене.Оно што је показано је нешто већа концентрација есенцијалних масних киселина код беба чије мајке имају прееклампсију,

што би се бар делимично могло објаснити повећаном активношћу транслоказа у прееклампсији.

Да бисмо испитали да ли исхрана мајке у погледу уноса МК као и њен маснокиселински профил у еритроцитима корелирају са статусом МК у еритроцитима код њихових беба, статистички је испитана корелација између мајки и беба. Код трудница контролне групе само заступљеност n-6 PUFA код беба корелира са садржајем ових масних киселина у фосфолипидима еритроцита мајки. У сагласности са овим резултатима су и резултати студије De Vriesa и осталих (126) за постојање корелације између дијетарног уноса мајке и садржаја n-6 масних киселина у фосфолипидима беба. Занимљиво је да ни за једну другу МК није нађена корелација у заступљености у еритроцитима мајке и бебе, тако да биолошки значај ових промена остаје нејасан и захтева даља истраживања.

Код мајки са прееклампсијом после транспорта кроз плаценту, не уочавају се више разлике у заступљености n-6 PUFA између беба по групама и заступљеност 18:2n-6 је чак статистички значајно повећана код беба мајки са прееклампсијом у односу на бебе трудница контролне групе. Такође, губи се корелација у погледу n-6 PUFA код мајки и беба у групи прееклампсије. Ови резултати указују да плацента игра значајну и активну улогу код пацијенткиња са прееклампсијом у обезбеђивању адекватног статуса n-6 масних киселина код беба,независно од дијетарног уноса њихових мајки.

Антиоксидативна заштита код здравих трудница и код трудница са прееклампсијом

Још један од циљева ове дисертације је испитивање антиоксидативног ензимског статуса еритроцита трудница са прееклампсијом и поређење са статусом здравих трудница, као и антиоксидативног ензимског статуса еритроцита крви беба обе групе испитаница. Анализирана је активност супероксид-дизмутазе и каталазе који представљају кључне антиоксидативне ензиме еритроцита потенцијално укључене у етиопатогенезу прееклампсије.

Резултати добијени у експерименталном делу показали су да је активност SOD у еритроцитима статистистички значајно нижа у групи испитаница са прееклампсијом у

односу на здраве труднице, као и у групи беба испитаница са преклампсијом у односу на бебе здравих трудница, при чему разлике у активности овог ензима између мајки и беба у обе групе нису статистички значајне. Статистички значајна разлика у активности SOD еритроцита крви мајки и крви пупчаника између група у сагласности је са раније публикованим истраживањима (127, 128, 129). Bulgan Kilicdag и сарадници (130) показали су да се ова разлика повећава са повећањем интензитета симптома прееклампсије. Negi и сарадници (131) доводе у везу ово смањење активности са смањеним нивоом микронутријената који представљају кофакторе овог ензима. То се пре свега односи на бакар, цинк и манган. Важно је истаћи да је повећана активност SOD једна од карактеристика трудноће, заједно са повећањем осталих компонената ензимске антиоксидативне заштите. Наиме, сви ови антиоксидативни ензими се активирају у одговору на повећање оксидативног стреса функционално укљученог у процесе карактеристичне за трудноћу, што представља компензаторни одговор организма мајке на стрес (132).

Приказане вредности активности каталазе показују да је активност овог ензима у еритроцитима статистички значајно нижа у групи трудница са прееклампсијом у односу на контролну групу трудница. Ови резултати у складу су са претходно публикованим резултатима који показују да је активност каталазе у еритроцитима у трудноћи статистички значајно смањена у односу на контролну групу испитаница исте старосне доби, као и смањење активности овог ензима код испитаница са прееклампсијом, сразмерно степену присутних симптома (133, 134, 135). Потенцијални узрок смањене активности је смањење продукције NADPH у еритроцитима испитаница са прееклампсијом (136) узимајући у обзир деловање NADPH на инхибицију инактивације каталазе до које долази при високим концентрацијама водоник пероксида (137). У прилог овој тврдњи су и резултати студије Mohan и Venkataramana (138) који показују смањену активност каталазе у еритроцитима код трудница са хипертензијом изазваном трудноћом.

Показано је да је активност каталазе еритроцита код беба мајки са прееклампсијом статистички значајно нижа од вредности овог параметра код беба здравих мајки. Иако је статистичка значајност показана у и разлици активности каталазе код мајки у односу на бебе код обе групе испитаница, она је израженија у контролној у односу на групу са прееклампсијом, односно разлика између вредности овог параметра израженија између

група мајки у односу на бебе. Добијени резултати су у сагласности са претходно публикованим резултатима (139) указујући на могућност да бебе испитаница са прееклампсијом делимично развијају компензаторне механизме у погледу активности каталазе.

Као модел оштећења ћелија деловањем реактивних врста кисеоника коришћене су импортализоване ендотелне ћелије у култури-EA-hy.926, третиране водоник пероксидом.Праћењем преживљавања ћелија MTT тестом утврђено је да водник пероксид доводи до статистички значајног смањења преживљавања што је у сагласности са ранијим истраживањима (140).

In vitro излагање деловању егзогеног водоник пероксида доводи до продукције реактивних врста кисеоника у ендотелним ћелијама и смањења активности ензима антиоксидативне заштите (141).Услед тога долази до акумулације RVK и оштећења ћелија.Деловањем на активност антиоксидативних ензима поједини антиоксиданси доводе до смањења нивоа RVK у ендотелним ћелијама и ублажавају оштећење ћелија изазвано излагањем дејству водоник пероксида (142).

На основу приказаних резултата третман EA.hy 926 ћелија рибљим уљем који је претходио излагању ћелија водоник пероксиду доводио је до повећања преживљавања ћелија у односу на преживљавање ћелија третираних само водоник пероксидом.Овај ефекат био је дозно зависан и статистичка значајност је постигнута при концентрацијама од 50 и 100µl/ml.Резултати истраживања Kim и Chung-a показали су да третман епителних ћелија и макрофага са DHA и EPA, присутним у рибљем уљу, доводи до смањења нивоа RVK насталих деловањем арахидонске киселине и повећања нивоа сулфхидрилних група и активности антиоксидативних ензима, указујући на могућност да је смањење оштећења ћелија деловањем водоник пероксида у приказаном експерименту последица јачања антиоксидативне заштите унутар ћелија.Истовремено интактно рибље уље коришћено у овој студији, за разлику од масних киселина присутних у хидролизованом уљу, не показује утицај на преживљавање ћелија у испитиваним концентрацијама, што је највероватније последица ограничене активности ендогене липазе (144).То објашњава и чињеницу да је протективно деловање рибљег уља у приказаном експерименту на преживљавање ћелија при деловању водоник пероксида, остварено при вишим концентрацијама, узимајући у обзир садржај EPA и DHA поређењем са концентрацијама

потребним за повећање активности ензима при деловању ових масних киселина (143).Ово указује на могућност да је ниво потенцијално антиоксидативних масних киселина ослобођен *in vitro* деловањем ендогених липаза, адекватан за фаворизовање антиоксидативног деловања састојака рибљег уља на нивоу ћелије у овој студији.

VI ZAKLJUČAK

6. ЗАКЉУЧАК

Резултати добијени у овој студији упућују на следеће закључке:

- Труднице у нашој популацији имају неадекватну исхрану, и то не само труднице са прееклампсијом, већ и контролна група.Унос енергије, протеина, а посебно угљених хидрата и масти је недопустиво висок, а унос масних киселина које су од највећег значаја за правилан раст и развој плода (EPA, DHA) недовољан.

- Маснокиселински профили фосфолипида еритроцита значајно се разликују код трудница са прееклампсијом у односу на здраве труднице. Палмитолеинска киселина и укупне MUFA су више, а линолна киселина, n-6 и PUFA су ниже код трудница са прееклампсијом него у контролној групи. Могући узроци су разлике у уносу меса у ове две групе пацијенткиња или поремећај активности Δ9 десатуразе у прееклампсији.

- Профили масних киселина пупчаника се не разликују значајно у групи беба чије мајке имају прееклампсију у односу на бебе здравих мајки. То указује да плацентална баријера штити бебу од неповољног МК профила мајке.

- Не постоји корелација између састава МК у еритроцитима мајке и бебе, сем у случају n-6 PUFA и то само у групи здравих трудница. Посебна разлика је уочена у повећаном уделу арахидонске киселине код беба у односу на мајке, уз пропорционално снижење линолне киселине као прекурсора за синтезу АА, што је вероватно последица повећаних потреба бебе за АА, која је неопходна за раст.

- Активност ензима антиоксидативне заштите SOD и каталазе у еритроцитима снижена је у групи мајки са прееклампсијом, као и код њихових беба. То указује на повезаност прееклампсије и смањеног антиоксидативног статуса и могућност ублажавања компликација изазваних преклампсијом дијетарним мерама усмереним на јачање механизама антиоксидативне заштите трудница (или организма пре и у току трудноће).

- Предтретман ендотелних ћелија у култури рибљим уљем као извором PUFA доводи до смањења оштећења ћелија насталог деловањем егзогеног водоник-пероксида.

- Увођење саветовалишта за исхрану и дијетарне препоруке на почетку,али и у току целе трудноће могле би значајно допринети здрављу и мајке и новорођенчета, а могуће и смањити инциденцу прееклампсије или ублажити компликације изазаване прееклампсијом у нашој популацији.

VII СПИСАК СКРАЋЕНИЦА

7. СКРАЋЕНИЦЕ

PUFA (polyunsaturated fatty acid) полинезасићене масне киселине

EPC (endothelial progenitor cells)- ендотелијалне прогенитор ћелије

RVK –reaktivne vrste kiseonika

NADPH-никотинамид-динуклеотид фосфат

WHO-Светска здравствена организација

MK –масне киселине

TG-триглицериди

SFA (saturated fatty acids)-засићене масне киселине

MUFA (monounsaturated fatty acids)- мононезасићене масне киселине

DHA- докозахексаенска киселина

LA-линолна киселина

ALA- α линолеинска киселина

AA-арахидонска киселина

EPA-еикозапентаенска киселина

DPA-докозапентаенска киселина

FFM (Food frequency method)-метода учесталости уноса намирница

FFQ (The Food Frequency Questionnare)-упитник о учесталости конзумирања намирница

GLC (liquid chromatography) гасно течна хроматографија

NO-азот-моноксид

SOD- супероксид дисмутаза

HUVEC (human umbilical venous endothelial cells)-хумане ендотелијалне ћелије умбиликалне вене

VIII ЛИТЕРАТУРА

8. ЛИТЕРАТУРА

1. Williams D. Long-term complications of preeclampsia. Semin Nephrol. 2011 Jan;31(1):111-22.
2. Schäffer L. Preeclampsia - a life-time risk for the mother. Praxis 2012 Apr 11;101(8):531-7.
3. Ahonen J, Nuutila M. HELLP syndrome--severe complication during pregnancy.Duodecim. 2012;128(6):569-77.
4. Mehendale S, Kilari A, Dangat K, Taralekar V, Mahadik S, Joshi S. *Fatty acids, antioxidants, and oxidative stress in pre-eclampsia*. Int J Gynaecol Obstet 2008; 100:234e8.
5. Poon LCY, Kametas NA, Maiz N, Akolekar R, Nicolaides KH. *First-trimester prediction of hypertensive disorders in pregnancy*. Hypertension 2009; 53: 812–18.
6. Jong Weon C, Moon Whan I, Soo Hwan P. Nitric oxide production increases during normal pregnancy and decreases in preeclampsia. Awards of Clinical Laboratory Science. 2002; 32 (3):257-63
7. Toal M, Chan C, Fallah S, et al. *Usefulness of a placental profile in high-risk pregnancies.* Am J Obstet Gynecol 2007; 196: 363.
8. Aydin S, Benian A, Madazli R, Uludag S, Uzun H, Kaya S. *Plasma malondialdehyde, superoxide dismutase, sE-selectin, fibronectin, endothelin-1 and nitric oxide levels in women with preeclampsia*. Eur J Obstet Gynecol Reprod Biol 2004; 113:21–25.
9. Durkovic J, Mandic B. The importance of determining human placental lactogen in the third trimester of pregnancy. 2009: 28: 97–100
10. Duckitt K, Harrington D **Risk factors for pre-eclampsia at antenatal booking: systematic review of controlled studies.** BMJ. 2005 Mar 12;330(7491):565.
11. Agarwal A, Gupta S, Sekhon L, Shah R. Redox considerations in female reproductive function and assisted reproduction: from molecular mechanisms to health implications. Antioxid Redox Signal. 2008 Aug;10(8):1375-403.
12. Myatt L, Cui X. Oxidative stress in the placenta. Histochem Cell Biol 2004; 122: 369-382.
13. Myatt L.Reactive oxygen and nitrogen species and functional adaptation of the placenta. Placenta 2010; 31 Suppl:S66-S69.
14. Gagioti SM, Colepicolo P, Bevilacqua E. Reactive oxygen species and the phagocytosis

process of hemocorial trophoblast. J Braz Assoc Adv 1996; 48:37-42.

15. Matsubara S, Sato I. Enzyme histochemically detectable NAD(P)H oxidase in human placental trophoblasts: normal, preeclamptic, and fetal growth restriction-complicated pregnancy. Histochem Cell Biol 2001**;** 116:1–7.
16. Hingorani AD, Cross J, Kharbanda RK. Acute systemic inflammation impairs endothelium dependent dilatation in humans. Circulation 2002; 102:994-9
17. Pasceri V. Direct proinflammaratory effect of C-reactive protein on human endothelial cells. Circulation 2000; 102:2165-8.
18. Zhang J. C-reactive protein induced expression of adhesion molecules in cultured cerebral microvas-cular endothelial cells. Life Sci 2005; 303: 156-158.
19. Nobunaga T, Tokugawa Y, Hashimoto K, Kimura T, Marsuzaki N, Nitta Y, Fujita T, Kidoguchi K, Azuma C. Saji F. Plasma nitric oxide levels in pregnant partients with preeclampsia and essential hypertension. Gynecol Obstet Invest 1996;41:189-193.
20. Aydin S, Benian A, Madazli R, Uludag S, Uzun H, Kaya S. *Plasma malondialdehyde, superoxide dismutase, sE-selectin, fibronectin, endothelin-1 and nitric oxide levels in women with preeclampsia*. Eur J Obstet Gynecol Reprod Biol 2004; 113:21–25.
21. Agarwal A, Allamaneni SS. Role of free radicals in female reproductive diseases and assisted reproduction. Reprod Biomed Online. 2004;9(3):338-47.
22. Gupta S, Aziz N, Sekhon L, Agarwal R, Mansour G, Li J, Agarwal A. Lipid peroxidation and antioxidant status in preeclampsia: a systematic review. Obstet Gynecol Surv. 2009;64(11):750-9.
23. Rogers MS, Wang CC, Tam WH, et al. Oxidative stress in midpregnancy as a predictor of gestational hypertension and pre-eclampsia. BJOG 2006;113:1053–1059.
24. Poston L, Igosheva N, Mistry HD, Seed PT, Shennan AH, Rana S, Karumanchi SA, Chappell LC. Role of oxidative stress and antioxidant supplementation in pregnancy disorders. Am J Clin Nutr. 2011;94(6 Suppl):1980S-1985S.
25. .Sattar N, Clark P, Greer IA, Shepherd J, Packard CJ. Lipoprotein (a) levels in normal pregnancy and in pregnancy complicated with pre-eclampsia. Atherosclerosis 2000;148: 407–.

26. .Manten GTR, Franx A, van der Hoek YY, Hameeteman TM, Voorbij HAM, Smolders HC, et al. Changes of plasma lipoprotein (a) during and after normal pregnancy in Caucasians. J Matern Fetal Neonatal Med 2003;14:1–5.
27. Jackson RL, Gotto AM. Phospholipids in biology and medicine. New E J Med 1974; 290:24-29.
28. Kostić D. Biosinteza fosfolipida.U: Kostić D (ured). Biosinteza lipida. Medicinski fakultet, Beograd 1979;7.
29. Lepšanović LJ. Struktura, klasifikacija i fiziologija lipoproteina. U: Manojlović D(ured) Poremećaj metabolizma lipida. Hemofarm, Vršac 1992; 1-14.
30. Kent C. Eucariotic phospholipid biosynthesis. Annu Rev Biochem 1995; 4:315-343.
31. Gannong WF. Metabolizam masti. U: Gannong WF(Ed). Pregled medicinske fiziologije.Savremena administracija, Beograd 1991; 17:286-297.
32. Laposata M.Fatty acids-Biochemistry to clinical significance. Am J Clin Pathol 1995;104:172-179.
33. Stubbs CD,Smith AD.The modification of mammalian membranepolyunsaturated fatty acid composition in relation to membrane fluidity and function.Biochem Biophys Acta 1984; 779:89.
34. Berdanier CD.Role of membrane lipids in metabolic regulation.Nutr Rev 1988; 46:145-149.
35. Shinitzuky M. Membrane fluidity and cellular functions. In: Shinitzuky M. (ed) Physiology of membrane fluidity. Boca Raton, FL CRC Press Inc 1984, 1-51.
36. Van Merr G. Lipid traffic in animal cells. Annu Rev Cell Biol 1989; 5: 247-275.
37. Ristić V. Uticaj diazepama i alkohola na lipide krvne plazme i jetre kod pacova. Doktorska disertacija. Farmaceutski fakultet, Beograd 1991.
38. Peeters H. The biological significance of the plasma phospholipids. In: Peeters H (ed) Phosphatidylcholine. Springer – verlag, Berlin 1976; 10.
39. Rosoff PM, Potter DA. Regulatory mehanisms. In:Hoffman R (ed). Hematology- basic principle and practice. Churchil Livingstone, New York 1995; 6:60-69.
40. Thompson GA. Metabolism and control of lipid structure and modification. Biochem Cell Biol 1986; 64:66-69.
41. Lepšanović Lj. Niski holesterol i dileme koje ga prate. VII jugoslovenski simpozijum o hiperlipoproteinemijama. Novi Sad 1995; Zbornik radova, str 18.

42. Karlson P. Masti i metabolizam masti. U Biokemija. Karlson Ed. 215-28. Školska knjiga, Zagreb, 1988.
43. Lepšanović L, Lepšanović Lj. Lipidi i lipoproteini. U Klinicka lipidologija Lepsanovic L (Ed): 9-58, Savremena administracija. Beograd, 2000.
44. Ristić V. Uticaj diazepama i alkohola na lipide krvne plazme i jetre kod pacova. Doktorska disertacija. Farmaceutski fakultet. Beograd, 1991.
45. Nikolaidis GM,Mougios V.Effects of exercise on the fatty-acid composition of blood and tissue lipids.Sports Med 2004,34 (15) 1051-1076.
46. Macfarlane DP, Forbes S, Walker BR.Glucocorticoids and fatty acid metabolism in humans:fuelling fat redistribution in the metabolic syndrome.Journal of Endocronol 2008, 197:189-204.
47. Hamilton JA. Fatty acid transport: Difficult or easy? J Lipid Res 1998; 39:467-481
48. . Lepšanović L, Lepšanović Lj. Dijetetska ishrana. U Klinicka lipidologija Lepsanovic L (Ed): 222-232, Savremena administracija. Beograd, 2000.
49. Gonzalez J, Periago JL, Gil A, et al. Malnutrition-Related polyunsaturated fatty acid changes in plasma lipid fractions in cirrhotic patients. Metabolism 1992; 41:954-960.
50. Beaudon F, Michaelson LV, Hey, SJ, at al. Heterologous reconstitution in yeast of the polyunsaturated fatty acid biosynthetic pathway. Proc Natl Acad Sci USA 2000; 97:6421-6426.
51. Hastings N, Agaba M, Tocher DR, et al. A vertebrate fatty acid desaturase with Δ5 and Δ6 activities. Proc Natl Acad Sci USA 2001; 98:14304-14309.
52. Porter BO, Malek TR. Prostaglandin E-2 inhibits T-cell activation-induced apoptosis and Fas-mediated cellular cytotoxicity of fas-ligand induction. Eur J Immunol 1999; 29: 2360-2365
53. Marzo I, Pineiro A, Naval J. Loss of delta-6-desaturase activity leads to impaired docosahexaenoic acid synthesis in Y-79 retinoblastoma cells. Prostagland Leuk Essent Fatty 1999; 59:293-299.
54. Marzo I, Alava MA, Pineiro A, Naval J. Biosynhesis of docosahexanoic acid in human cells-evidence that 2 different delta 9.6 desaturase activities may exist. BBA-Lipid Lipid Metab, 1996; 1301(3): 263-72.
55. Lee WNP, Lim S, Bassilian S, et al. Fatty acid cycling in human hepatoma cells and the effect of troglitazone. J Biol Chem 1998; 273: 20929-20934.

56. Kelly FD,Sinclair AJ, Mann NJ, Turner AH, Abedin L, Li D.A stearic acid-rich improves thrombogenic and atherogenic risk factor profiles in healthy males.Eur J Clin Nutr.2001 ,55 88-96.
57. Grundy SM. Influence of stearic acid on cholesterol metabolism relative to other long-chain fatty acids. Am J Clin Nutr 1994, 60: 986S-990S.
58. Thormar H, Isaacs CE, Kim KS, Brown HR. Inactivation of visna virus and other enveloped viruses by free fatty acids and monoglycerides. Ann N Y Acad Sci 1994, 724:465-71.
59. German JB.Buturyc acid: a role in cancer prevention. Nurt Bull 1999,24:293-9.
60. Mensink RP, Zock PL, Kester AD, Katan MB. Effects of dieatary fatty acids and carbohydrates on the ratio of serum total to HDL cholesterol and on serum lipids and apolipoproteins: a meta-analysis of 60 controled trials. Am J Clin Nutr 2003, 77: 1146-55.
61. Blache D, Gesquiere L, Loreau N, Durand P. Oxidant stress – the role of nutritiens in cell-lipoprotein interactions. Poc Nutr Soc 1998; 58: 559-563.
62. Sun CQ, O'Conor CJ, Roberton AM. The antimicrobial properties of milk fat after partial hydrolysis by calf pregarstric. Chem Biol Interact 2002, 140:185-98.
63. Benatti P, Peluso G, Nicolai R, Calvini M. Polyunsaturatred Fatty Acid: Biochemical, Nutritional and Epigenetic Properties. J Am Coll Nutr 2004; 23:281-302.
64. Chaurdy AA, Wahle KW, McClinton, et al. Arachidonic acid matabolism in benign and malignant prostatic tissue in vitro: effects of fatty acids and cyclooxygenase inhibitors. Int J cancer 1994; 57:176.
65. Evans LM, Cowey SL, Siegal GP, Hardy RW (2009) Stearate preferentially induces apoptosis in human breast cancer cells. Nutr Cancer. 61:746-753.
66. Olsson AG, Walldius G, Rossner S. Studies on serum lipoproteins and lipid metabolsm. Acta Med Scand 1980; 637:33-35.
67. Arsic A, Vucic V, Tepsic J, Mazic S, Djelic M, Glibetic M: Altered plasma and erythrocyte phospholipid fatty acid profile in elite female water polo and football players. Appl Physiol Nutr Metab, 37: 40-47, 2012.
68. Kris-Etherton PM. AHA Science advisory: Monounsaturated fatty acids and risk of cardiovascular disease. J Nutr 1999; 125:2280-2284.
69. Stump DD, Fan X,and Berk PD. Oleic acid uptake and binding by rat adipocytes define dual pathways for cellular fatty acid uptake. J Lipid Res 2001; 42:509-520.

70. Kris-Etherton PM,Yu S Individual fatty acids on plasma lipids and lipoproteins:in human studies.Am J Clin Nutr 1997;65 (Suppl 5:) 1628S-1644S.
71. Gardner CD,Kraemer HC.Monounsaturated versus polyunsaturated dietary fat and serum lipids:a metaanalysis.Arterioscler Thromb Vasc Biol 1995;15:1918-27.
72. Nair SSD, Leitch JW, Falconer J and Garg M. prevention of cardiac arrhythmia by dietary (n-3) polyunsaturated fatty acids. J Nutr 1997; 127:383-393.
73. Sessler AM,Ntambi JM.Polyunsaturated fatty acid regulation of gene expression.J Nutr 1998;128:923-926.
74. Grimsgaard S,Bonna KH,Bjerve KS.Fatty acid chain length and degree of unsaturation are inversely associated with serum triglycerides.Lipids 2000; 5(11):1185-193.
75. Herrocks LA, Yeo YK. Health benefits od docosahexaenoic acid. Pharmacol Res 1999; 40: 211-225.
76. Josyla S, Schut HAJ. Dietary omega-3-fatty acids as potential inhibitors of carcinogenesis – effects on DNA adduct formation of 2-amino-1-methyl-6-phenylimidazo(4,5-B)pyridine (Phip) in mice and rats. Food Chem Toxicol 1999; 37: 287-296.
77. Simopoulos AP.Essential fatty acids in health and chronic disease.Am J Clin Nutr 1999;70 (3 Suppl)560S-569S.
78. Sessler AM,Ntambi JM.Polyunsaturated fatty acid regulation of gene expression.J Nutr 1998;128:923-926.
79. Harris W. Omega-3 Fatty Acids and Cardiovascular Disease: A Case for Omega-3 Index as a New Risk Facto. Pharmacol Res. 2007; 55(3): 217-223-218.
80. ISSFAL. Recommendations for intake of polyunsaturated fatty acids in healthy adults. 2004. Internet: http://www.issfal.org.uk/Welcome/PolicySteatment3.asp (accesed 17 April 2006.).
81. WHO: Diet, nutrition and the prevention of chronic diseases. Technical Report Series No. 916, WHO Geneva, 2003.
82. Weber PC.Are we what we eat.Fatty acids in nutrition and in cell membranes:cell functions anddisorders induced by dietary conditions.In:Fish fats and your health.Norway:Svanoy Foundation,1989:9-18.
83. Wolk A,Furuheim M,Vesseby B.Fatty acid composition of adipose tissue and serumlipids are valid biological markers of dairy fat intake in men. J Nutr 2001;131:828-833.

84. Kobayashi M, Sasaki S,Kawabata T,Hasegawa K,Akabane M,Tsugane S.Single measurement of serum phospholipid fatty acid as a biomarker of specific fatty acid intake in middle-aged Japanese men.Eur J Clin Nutr 2011;55: 643-645.
85. Sarkkinen E,Agren J, Ahola I, Ovaskainen M,Usitupa M.Fatty acid composition of serum cholesterol esters and erythrocyte and platelet membranes as indicators of long-term adherence to fat-modified diets.Am.J Clin Nutr 1994; 59,364-370.
86. Dougherty RM,Galli C,Ferro-Luzzi A,Iacono JM.Lipid and phospholipid fatty acid composition in plasma red blood cells platelets and how the are affected by dietary lipids:a study of normal subjects from Italy,Finland and the USA. Am J Clin Nutr 1987; 45:443-455.
87. Sasaki S, Ushio F, Amano K, et al. (2000) Serum biomarker-based validation of a self administered diet history questionnaire for Japanese subjects. J Nutr Vitaminol (Tokyo) 46, 285-296.
88. McKeown NM, Day NE, Welch AA Runswick SA, Luben RN, Mulligan AA, McTaggart A, Bingham SA. Use of biological markers to validate self- reported dietary intake in a random sample of the Europen Prospective Investigation into Cancer. United Kindom Norfolk cohort. Am J Clin Nutr 2001;74:188-196.
89. Katen M, Deslypere J, Birgelen A, Penderes M, Zegwaard M. Kinetics of the incorporation of dietary fatty acids into serum cholesteryl esters, erythrocyte membranes, and adipose tissue: an 18-mont controlled study. J Lipid Res 1997; 38: 2012-222.
90. Nathan DG. Incorporation of phosphatide precursors from serum into erythrocytes. Biochim Biophys Acta 1970; 202: 202-205.
91. Manku MS, Horrobin DF, Huang YS, Morse N. Fatty acids in plasma and red cell membranes in normal humens. Lipids 1983; 18: 906-908.
92. Clifton PM, Nestel PJ Relationship between insulin and erythrocyte fatty acid compostion. Prostaglandins Leukot Essent Fatty Acids 1998; 59:191-19.
93. GUIDANCE OF EFSA General principles for the collection of national food consumption data in the view of a pan-European dietary survey1 European Food Safety Authority, EFSA Journal 2009; 7(12):1435, doi:10.2903/j.efsa.2009.1435.
94. Glibetic, M., Kadvan, A., Tepsic, J., Martacic, J. D., Djekic-Ivankovic M., & Gurinovic, M., Management of Food Composition Database harmonized with EuroFIR criteria using a web application, Journal of Food Composition and Analysis. 2010.doi:10.1016/j.jfca.2010.09.002.

95. Christie WW Lipid analysis, Pergamon Press, 1982.
96. Harth S, Dreyfus H, Urban PF, Mandel P. Direct thin-layer chomatography of gangliosides of total lipid extracts. Anal Biochem 1978; 86: 543-551.
97. Ristić V: Uticaj diezepama i alkohola na lipide krvne plazme i jetre kod pacova. Doktorska disertacija. Farmaceutski fakultet, Univerzitet u Beogradu, Institut za medicinska istraživanja, 1991; 3-35.
98. Christopherson SW, Glass RL. Preparation of Milk Fat Methyl Esters by Alcoholysis in an Essentially Nonalcoholic Solution. Journal of Dairy Science 1969: 52 (8): 1289-1290.
99. Edgell CJ, McDonald CC, Graham JB. Permanent cell line expressing human factor VIII-related antigen established by hybridization. Proc Natl Acad Sci U S A. 1983;80(12):3734-7.
100. Baranska P, Jerczynska H, Pawlowska Z, Koziolkiewicz W, Cierniewski C. Expression of Integrins and Adhesive Properties of Human Endothelial Cell Line Ea.Hy 926 Cancer Gen Prot. 2005;2:265-70.
101. Edgell CJ, Haizlip JE, Bagnell CR, Packenham JP, Harrison P, Wilbourn B, Madden VJ. Endothelium specific Weibel-Palade bodies in a continuous human cellline, EA.hy926. In Vitro Cell Dev Biol. 1990;26(12):1167-72.
102. Rogers I & Emmett P (1998) Diet during pregnancy in a population of pregnant women in South-West England. European Journal of Clinical Nutrition 52: 246–50.
103. Goldberg G (2002) Nutrition in pregnancy and lactation. In: *Nutrition Through the Life Cycle* (P Shetty ed.), pp. 63–90. Leatherhead Publishing: Leatherhead, UK.
104. DH (Department of Health) (1991) Report on Health and Social Subjects No. 41. Dietary Reference Values for Food, Energy and Nutri58.
105. Hytten FE (1980) Nutrition. In: *Clinical Physiology in Obstetrics* (FE) Hytten & G Chamberlain eds), pp. 163–92. Blackwell Publishing:Oxford.
106. FAO/WHO/UNU (1985) Report of a Joint Expert Consultation:Energy and Protein Requirements. Technical Report Series 724. WHO: Geneva.
107. Henderson L, Gregory J, Irving K et al. (2003c) The National Diet and Nutrition Survey: Adults Aged 19–64 years, Volume 2:Energy, protein, carbohydrate, fat and alcohol intake. HMSO:London.

108. FAO/WHO/UNU (2004) Report of a Joint FAO/WHO/UNU Expert Consultation. Human Energy Requirements. FAO Food and Nutrition Technical Paper Series, No. 1, 2004.
109. C. S. Williamson(2006) British Nutrition Foundation Nutrition Bulletin, 31, 28–59
110. San Giovanni JP, Berkey CS, Dwyer JT, Colditz GA, 2000, Dietary essential fatty acids, long-chain polyunsaturated fatty acids, and visual resolution acuity in healthy fullterm infants: a systematic review, Early Hum Dev, 57, 165-88.
111. Innis SM, Elias SL. Intakes of essential n-6 and n-3 pllyunsaturated fatty acids among pregnant Canadian women. Am J Clin Nutr 2003;77:473-8.
112. Denomme J, Stark KD, Holub BJ. Direct Quantitated Dietary (n-3)Fatty Acid Intakes of Pregnant Canadian Women Are Lower than Current Dietary Recommendation. J Nutr 2005;135:206-211.
113. Parra MS, Schnaas L, Meydani M, Perroni E, Martinez S, Romieu I. Erythrocyte cell membrane phospholip levels compared against dietary intakes of polyunsaturated fatty acids in pregnant Mexican women. Public Health Nutr 2002;5:931-7.
114. Magnusardottir AR, Steingrimsdottir L, Thorgeirsdottir H, Hauksson A, Skuladottir GV. Red blood cell n-3 ppolyunsaturated fatty acids in firs trimester of pregnancy are inversly associated with placental weight. Acta Obestet Scand. 2009;88:91-97.
115. lsen SF, Secher NJ. A possible preventive effect of low-dose fish oil on early delivery and pre-eclampsia: indications from a 50-year-old controlled trial. *Br J Nutr.* 1990;64:599–609.
116. Olsen SF. A possible preventive effect of low-dose fish oil on early delivery and pre-eclampsia:indications from a 50-year-old controlled trial. British Journal of Nutrition 1990; 64, 599-609.
117. Szajewska H, Horvath A, Koletzko B. Effect of n-3 long-chain polyunsaturated fatty acid supplementation of women with low-risk pregnancies on pregnancy outcomes and growth measures at birth: a meta-analysis of randomized controlled trials. Am J Clin Nutr 2006; 83:1337-44.
118. Williams MA, Zingheim RW, King IB, Zebelman AM. Omega-3 fatty acids in maternal erythrocytes and risk of preeclampsia. Epidememiology 1995; 6:232-237.
119. Qiu C, Sanchez SE, Larrabure G, David R, Bralley JA, Williams MA. Erythrocyte omega-3 and omega-6 polyunsaturated fatty acids and preeclampia risk in Peruvian women. Arch Gynecol Obstet. 2006; 274: 97-103.

120. Bakheit KH, Ghebremeskel K, Pol K, Erythrocyte omega-3 and omega-6 fatty acids profile in Sudanese women with pre-eclampsia. J Obestet Gynecol. 2010;30:151-154.
121. Mahomed K, Williams MA, King IB, Mudzamiri S, Woelk GB. Erythrocyte omega-3, omega-6 and trans fatty acids in relation to risk of preeclampsia among women delivering at Harare Maternity Hospital, Zimbabwe. Physiol Res. 2007;56(1):37-50. Epub 2006 Feb 23.
122. Walsh SW. Preeclampsia: an imbalance in placental prostacyclin and tromboxane production. Am J Obstet Gynecol. 1985;152:335-40.
123. Wang Y, Walsh SW, Gui J, Zhang J. The imbalance between thromboxane and prostacyclin in preeclamsia is associated with an imbalance between lipid peroxides and vitamin E in maternal blood. Am J Obestet Gynecol. 1991;165:1695-1700.
124. Velizing-Aarts, van der Klis F, van der Dijs F, Muskiet F. Umbrilical vessel of preeclamptic women have low contents of both n-3 and n-6 long-chain polyunsatutrated fatty acids. Am J Clin Nutr 1999;69:293-298.
125. Dutta-Roy A. Transort mechanisms for long-chain polyunsaturated fatty acids in human placenta. Am J Clin Nutr 2000; 71(suppl) 315-322.
126. De Vriese SR, Matthys S, De Henauw S. De Backer G. Dhont M, Christophe AB. Maternal and umilical fatty acid status in relation to maternal diet. Prostaglandins, Leucotriens and Essential Fatty acids. 2002; 67:389-396.
127. Suhail M, Suhail S, Gupta BK, Bharat V. Malondialdehyde and Antioxidant Enzymes in Maternal and Cord Blood, and their Correlation in Normotensive and Preeclamptic Women. J Clin Med Res. 2009;1(3):150-7.
128. Chamy VM, Lepe J, Catalán A, Retamal D, Escobar JA, Madrid EM. Oxidative stress is closely related to clinical severity of pre-eclampsia. Biol Res. 2006;39(2):229-36.
129. Llurba E, Gratacós E, Martín-Gallán P, Cabero L, Dominguez C. A comprehensive study of oxidative stress and antioxidant status in preeclampsia and normal pregnancy. Free Radic Biol Med. 2004;37(4):557-70.
130. Bulgan Kilicdag E, Ay G, Celik A, Ustundag B, Ozercan I, Simsek M. Oxidant-antioxidant system changes relative to placental-umbilical pathology in patients with preeclampsia. Hypertens Pregnancy. 2005;24(2):147-57.

131. Negi R, Pande D, Karki K, Kumar A, Khanna RS, Khanna HD. Trace elements and antioxidant enzymes associated with oxidative stress in the pre-eclamptic/eclamptic mothers during fetal circulation. Clin Nutr. 2012.
132. Hung TH, Lo LM, Chiu TH, Li MJ, Yeh YL, Chen SF, Hsieh TT. A longitudinal study of oxidative stress and antioxidant status in women with uncomplicated pregnancies throughout gestation. Reprod Sci. 2010;17(4):401-9.
133. Kolusari A, Kurdoglu M, Bugdayci G, Adali E, Yildizhan R, Cebi A, Demir H, Sahin G, Kamaci M. Relationship between erythrocyte catalase and serum adenosine deaminase activities in eclampsia. J Matern Fetal Neonatal Med. 2009;22(4):321-4.
134. Kaur G, Mishra S, Sehgal A, Prasad R. Alterations in lipidperoxidation and antioxidant status in pregnancy with preeclampsia. Mol Cell Biochem 2008;313:37–44.
135. Dordevic NZ, Babic GM, Markovic SD, Ognjanovic BI, Stajn AS, Zikic RV, Saicic ZS. Oxidative stress and changes in antioxidative defense system in erythrocytes of pre-eclampsia in women. Reprod Toxicol 2008;25:213–218.
136. Afzal-Ahmed I, Mann GE, Shennan AH, Poston L, Naftalin RJ. Pre-eclampsia inactivates glucose-6-phosphate dehydrogenase and impairs the redox status of erythrocytes and fetal endothelial cells. Free Radic Biol Med 2007;42:1781–1790.
137. Kirkman HN, Galiano S, Gaetani GF. The function of catalase-bound NADPH. J Biol Chem 1987;262:660–666.
138. Krishna Mohan S, Venkataramana G. Status of lipid peroxidation, glutathione, ascorbic acid, vitamin E and antioxidant enzymes in patients with pregnancy – induced hypertension. Indian J Physiol Pharmacol 2007;51:284–288.
139. Orhan H, Onderoglu L, Yücel A, Sahin G. Circulating biomarkers of oxidative stress in complicated pregnancies. Arch Gynecol Obstet. 2003;267(4):189-95.
140. Zhao R, Fang SH, Lin KN, Huang XQ, Lu YB, Zhang WP, Wei EQ. Pranlukast attenuates hydrogen peroxide-induced necrosis in endothelial cells by inhibiting oxygen reactive species-mediated collapse of mitochondrial membrane potential. J Cardiovasc Pharmacol. 2011 Apr;57(4):479-88.
141. Liu HT, Li WM, Xu G, et al. Chitosan oligosaccharides attenuate hydrogen peroxide-induced stress injury in human umbilical vein endothelial cells. Pharmacol Res. 2009;59:167–175.

142. Zhang R, Chae S, Kang KA, et al. Protective effect of butin against hydrogen peroxide-induced apoptosis by scavenging reactive oxygen species and activating antioxidant enzymes. Mol Cell Biochem. 2008;318:33–42.
143. Kim YJ, Chung HY. Antioxidative and anti-inflammatory actions of docosahexaenoic acid and eicosapentaenoic acid in renal epithelial cells and macrophages. J Med Food. 2007;10(2):225-31.
144. Van Beelen VA, Roeleveld J, Mooibroek H, Sijtsma L, Bino RJ, Bosch D, Rietjens IM, Alink GM. A comparative study on the effect of algal and fish oil on viability and cell proliferation of Caco-2 cells. Food Chem Toxicol. 2007;45(5):716-24.

КЉУЧНА ДОКУМЕНТАЦИЈСКА ИНФОРМАТИКА

УНИВЕРЗИТЕТ У КРАГУЈЕВЦУ
ФАКУЛТЕТ МЕДИЦИНСКИХ НАУКА

Редни број:
РБ

Идентификациони број:
ИБР

Тип документације:Монографска публикација
ТД

Тип записа:Текстуални штампани материјал
ТЗ

Врста рада:Докторска дисертација
ВР

Аутор: Прим. др. Весна Алексић Величковић
АУ

Ментор/коментор: Проф. др Милица Берисавац
МН

Наслов рада: Значај, улога и профил полинезасићених масних киселина (ПУФА) у прееклампсији
НР

Језик публикације: Српски (ћирилица)
ЈП

Језик извода: Српски/ Енглески
ЈИ

Земља публиковања: Земља публиковања Србија
ЗП

Уже географско подручје: Шумадија
УГП

Година: 2012
ГО

Издавач: СЗТР „М Сору“
ИЗ

Место и адреса: 31000 Ужице
МС Ул. Бирчанинова 2

Физичи опис рада: 144/33/21/144
ФО

Научна област: Медицина

Научна дисциплина: Хумана репродукција и развој
ДИ

Предметна одредница/ кључне речи: прееклампсија, ПУФА, исхрана
ПО

УДК

Чува се: У библиотеци Факултета медицинских наука Универзитета у Крагујевцу, Србија

ЧУ

Важна напомена:
МН

Извод: Прееклампсија је синдром непознате етиологије који подразумева мултисистемски поремећај у организму. То је обољење које се не може спречити ни излечити, али се може контролисати, успорити његова еволуција и спречити компликације. Може се јавити у 5%-8% свих трудноћа и значајно утиче на повећану стопу перинаталног морбидитета и морталитета. Патогенеза прееклампсије није још увек позната, у истраживањима се помињу генетски, имунолошки, а последњих година све више се истиче и дијетарни фактор. Бројна истраживања указују и да поремећај антиоксидативне активности ензима и смањење нивоа директних антиоксиданаса представља један од потенцијалних узрока

повећане липидне пероксидације код трудница са прееклампсијом, што може довести до оштећења васкуларног ендотела и манифестација симптома овог поремећаја. У нашем поднебљу, где и даље доминира сезонски тип исхране, примећује се неправилна исхрана трудница, недовољан унос минерала, витамина, свежег воћа и поврћа богатог антиоксидансима чиме се објашњава повећана учесталост прееклампсије посебно у зимском периоду.

Циљ: Основни циљ овог истраживања је да се испита дијетарни унос, статус полинезасићених масних киселина (ПУФА) у еритроцитима трудница са прееклампсијом и здравих трудница и њихових беба, као и параметри оксидативног стреса код обе групе трудница.

Методе: Истраживање је урађено као проспективна студија, у коју је укључено 30 трудница са прееклампсијом и 30 здравих трудница као контролна група. Дијетарни унос ПУФА процењен је методом учесталости уноса намирница. Профил масних киселина у еритроцитима трудница и из пупчаника бебе одређен је методом гасне хроматографије. Систем антиоксидативне заштите испитан је одређивањем активности ензима супероксид-дизмутазе (СОД) и каталазе. Улога и ефекат ПУФА на ћелијску пролиферацију одређена је помоћу МТТ есеја за ћелијско преживљавање.

Резултати: Анализа дијетарног упитника је показала да се труднице у студији веома неправилно хране и то не само труднице са прееклампсијом, већ и контролна група. Унос енергије, протеина, а посебно угљених хидрата и масти је недопустиво висок, а унос масних киселина које су од највећег значаја за правилан раст и развој плода недовољан. Поређењем маснокиселинских профила трудница са преклампсијом и контролних трудница, утврђено је да труднице са прееклампсијом имају већи удео мононезасићених масних кислиена, а смањен удео ПУФА од здравих трудница. Овакве разлике нису нађене код беба што показује да плацента штити бебу од неповољног статуса ПУФА мајке. Активност ензима антиоксидативне заштите СОД и каталазе је значајно нижа код трудница са прееклампсијом од контролне групе. Предтретман ендотелних ћелија у култури рибљим уљем као изворoм ПУФА довео је до смањења оштећења ћелија насталог деловањем егзогеног водоник-пероксида.

Закључак: Статус ПУФА и активност антиоксидативних ензима се значајно разликује код трудница са прееклампсијом у односу на здраве труднице, што указује да би се нутритивном интервенцијом могла смањити инциденца или ублажити компликације изазване прееклампсиојом у нашој популацији.

ИД

Датум прихватања теме од стране ННВ: 07.07.2011. годин
ДП

Датум одбране:
ДО

Чланови комисије:
Проф. др. Мирјана Варјачић, председник, Факултет медицинских наука у Крагујевцу
Проф. др. Александар Живановић, члан, Факултет медицинских наука у Крагујевцу
ВНС Весна Вучић, Институт за медицинска истраживања Универзитета у Београду
КО

KEY WORDS DOCUMENTATION

UNIVERSITY OF KRAGUJEVAC
FACULTY OF MEDICAL SCIENCES

Accession number:
ANO

Identification number:
INO

Documentation type: Monographic publication
DT

Type of record: Textual material, printed
TR

Contents code: PhD Thesis
CC

Author: Prim dr Vesna Aleksic Velickovic
AU

Menthor/co-mentor: Prof.Milica Berisavac
MN

Title:
TI

Language of text: Serbian
LT

Language of abstract: Serbian/English
Country of publication: Serbia
CP

Locality of publication: Sumadija district
LP

Publication year: 2012.
PY

Publisher: SZTR „M Copy”|
PU

Publication place: 31000 Užice,
PP Birčaninova 2

Physical description: 144/33/21/144

Scientific field: Medicine
SF

Scientific discipline: Human reproduction
SD

Subject/key words: preeclampsia, PUFA, nutrition
SKW

UDC

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

Note:
N

Abstract: Preeclampsia is a syndrome of unknown etiology that involves multisystem disorder of the organism. The disease can not be prevented or cured, but it can be controlled, its evolution slowed down and complications prevented. It occurs in 5% -8% of all pregnancies and significantly increases the rate of perinatal morbidity and mortality. The pathogenesis of preeclampsia is not yet known, and the research referred to genetic, immune, as well as the dietary factor in the recent years. Numerous studies suggest that disruption of antioxidant enzyme activity and reduction of the level of direct antioxidants is one of the potential causes of increased lipid peroxidation in pregnant women with preeclampsia, which can lead to the damage to the vascular endothelium and the manifestation of the disorder. In our climate, where the seasonal type of diet continues to dominate, there is an inadequate nutrition of pregnant women, insufficient intake of minerals, vitamins, fresh fruits and vegetables rich in antioxidants, which explains the increased incidence of preeclampsia, especially in winter.

Aim: The main objective of this study was to investigate the dietary intake, the status of polyunsaturated fatty acids (PUFA) in erythrocytes of preeclamptic and healthy pregnant women and the neonates, as well as the parameters of oxidative stress in both groups of pregnant women. Methods**:** The prospective study included 30 pregnant women with preeclampsia and 30 healthy pregnant women as controls. Dietary intake of PUFA was assessed by frequency of consumption of foods. Fatty acid profile in erythrocytes of pregnant women and neonate umbilical cord was determined by gas chromatography. Antioxidative defense system was tested by determining the enzyme superoxide dismutase (SOD) and catalase. The role and effect of PUFA on cell proliferation was determined by MTT essay for cell survival.

Results: Analysis of dietary questionnaire showed that pregnant women included in the study have very improper food intake, both pregnant women with preeclampsia, and the pregnant women from the control group. Intake of energy, protein, and especially carbohydrates and fats is unacceptably high. On the other hand, the entry of fatty acids that are of utmost importance for proper growth and development of the fetus is insufficient. Comparing fatty acid profile between the pregnant women with preeclampsia and the control group, it was found that pregnant women with preeclampsia have a higher proportion of monounsaturated fatty acids and a reduced proportion of PUFA than healthy pregnant women. These differences were not found in

neonates, which suggests that the placenta protects the fetus from the mother's unfavorable PUFA status. The activity of antioxidative enzymes SOD and catalase was significantly lower in the preeclamptic than the control group. Pretreatment of endothelial cells in culture with the fish oil as a source of PUFA decreased the cell damage resulting from the action of exogenous hydrogen peroxide.

Conclusion: There is a significant difference in the PUFA status and antioxidant enzyme activitiy between pregnant women with preeclampsia and healthy controls, suggesting that the nutritional intervention could reduce the incidence or lessen complications of preeclampsia in our population.

AB

Accepted by the Scientic Board on: July 07th 2011.
ASB

Defended on:
DE

Thesis defended board:	Prof.Mirjana Varjacic, MD, PhD,President,Faculty of
(Degree/name/surname/title/faculty)	Medical Sciences, University of Kragujevac
DB	Prof .Aleksandar Zivanovic, MD, Ph D,Member,
	Faculty of Medical Sciences,University of Kragujevac
	Vesna Vucic, PhD,Member,
	Insititute for Medical Research, University of Belgrade

БИОГРАФИЈА АУТОРА

Прим др Весна Алексић Величковић, специјалиста гинекологије и акушерства, рођена 11.11.1966. године у Краљеву. Медицински факултет завршила у Сарајеву 1991. године . Обавезан лекарски стаж обавила у Здравственом центру Студеница 1991/1992. године у Краљеву. Од 1995. године до 2009. године запослена у сталном радном односу у Здравственом центру Студеница у Краљеву, а у периоду 2004/2009. године радила као начелник Гинеколошко акушерске службе. Од 2009. године запослена у сталном радном односу у Клиничком Центру Србије у Клиници за гинекологију и акушерство у Београду. Специјалистички испит из гинекологије и акушерства положила 1996. године са одличном оценом на Медицинском факултету Универзитета у Београду. Завршила више едукација из специјалистичке области: обуку из цитологије 1996 године, базични курс из видео-лапароскопске хирургије 1997. године и видео-лапароскопске гинекологије 1998. године, Југословенску школу за патологију цервикса, вагине, вулве и колпоскопију 1998. године, Школу ултразвука „Иан Доналд“ 2008. године. У оквиру стручног усавршавања учествовала је на многобројним научним скуповима,конгресима и симпозијумима у земљи и иностранству,на којима је излагала и радове

Последипломске студије из области Хумане репродукције уписала 1995. године на Медицинском факултету Универзитета у Београду. У току школске 2009/10. године прелази на докторске академске студије, смер Хумана репродукција и развој, Факултета медицинских наука Универзитета у Крагујевцу. Усмени докторантски испит положила 2010. године са највишом оценом (10).
Од 2010.године активно учествује у пројекту Центра изузетних вредности за истраживање у области исхране и метаболизма, Института за медицинска истраживања Универзитета у Београду, „Биолошки механизми, нутритивни унос и статус полинезасићених масних киселина и фолата: унапређење исхране у Србији” (ИИИ 41030) које финансира Министарство просвете и науке Републике Србије.

Аутор је или коаутор двадесет и седам (27) приложених и предходно штампаних радова и сажетака, а 2011. године именована је од стране Министра здравља Републике Србије у звање примаријуса.

Рад у часопису међународног значаја М 23

1. Љуштина С, Берисавац И Ивана, Берисавац М, Ковачевић-Вуколић Љ, Величковић-Алексић В, Марковић Н. Analysis of intracranial hemorrhage ¯s grade in preterm singleton pregnancies delivered vaginaly or by cesarean sectiont. Vojnosanit. Pregl. 2013; 70 (3): pp.

Рад у часопису националног значаја М 52

1. Величковић Алексић В, Берисавац М, Љуштина С, Марковић Н, Дотлић Ј. *Анализа перинаталног исхода у хитним царским резовима рађеним због феталне асфиксије*. Материа медика, 2010; 26 (2): 33-40.

Радови у научним часописима М 53

1. Алексић-Величковић В, Кардум Н, Берисавац М, Конић-Ристић А, Глибетић М. Активност антиоксидативних ензима у еритроцитима здравих трудница, трудница са прееклампсијом и новорођенчади .Materia medica, 2012; 28 (4): pp...

2. Величковић С, Величковић В, Фолић М. *Инфекција грлића материце микоплазмом у инфертилиних жена*. Медицински часопис, 1995; 1: 111-114.

3. Величковић С, *Величковић В*, Фолић М. *Инфекција грлића материце хламидијом трахоматис у инфертилиних жена*. Медицински часопис. 1995; 1: 105-109.

Саопштења са међународних скупова штампана у изводу М 34

1. М.Терзић, М.Берисавац, Н.Марковић, Ј.Дотлић, Љ.Ковачевић Вуколић, В.Величковић, Е.Пашић. *Maternal morbidity after giving birth of a macrosomal infant:a case of unrecognised gestational diabetes mellitus.* The 6th International Symposium on Diabetes & pregnancy, Salzburg, Austria, March 23-26, 2011; Book of abstracts 243

2. М.Берисавац, М.Терзић, Ј.Дотлић, Н.Марковић, В.Величковић , Љ.Ковачевић Вуколић, Е.Пашић. *Pregnancy outcome in patientes with gestational diabetes mellitus. The 6th International Symposium on Diabetes & pregnancy*, Salzburg, Austria, March 23-26, 2011; Book of abstracts 226

3. Берисавац М, Берисавац И, Марковић Н, Величковић Алексић В, Максимовић М. *Myasthenia gravis and perinatal outcome.*XXII European Congress of Perinatal Medicine,Granada,Spain,May 26-29,2010 The Journal of Maternal–fetal and Neonatal Medicine.Vol. 23(1): 199-200.

4. Берисавац М, Терзић М, Величковић Алексић В, Марковић Н, Спарић Р, Дотлић Ј, Рашлић Ж. *The analyisis of cytological and hystological pre-malignant lesions of the uterine cervix before and after LOOP excision.*1st EAGC-ESO Congress on management guidelines in gynaecological oncology,Budapest,Hungary,May 16-19,2010 ; CME Journal Gynecologic Oncology 2010; 15: 46

5. Марковић Н,Берисавац М, Алексић-Величковић В, Максимовић М.*Postpartum contraception.*10th ESC Seminar –Unwanted pregnancy or abortion,Belgrade,Serbia,18-19 September 2009,The European Journal of contraception & Reproductive Health Care,Book of abstracts 25

Саопштења са скупова националног значаја штампана у целини М 63

1. Берисавац М,Терзић М, Величковић-Алексић В, Љуштина С, Маричић З.*Значај лечења цервиковагиналне инфекције у трудноћи као фактора ризика перинаталног морбидитета.* 56. Гинеколошко-акушерска недељаСЛД, Зборник радова,Београд 2012;85-92

2. Берисавац М,Величковић –Алексић В, Љуштина С,Јањић Т.*Цистични аднексални тумор после мастектомије-метастатска неоплазма или примарни тумор?* 56.Гинеколошко-акушерска недеља СЛД, Зборник радова,Београд.2012;607-610

3. Алексић Величковић В, Берисавац М, Љуштина С, Марковић Н, Ковачевић-Вуколић Љ. *Гинеколог у терцијерних установи – где су изазови и како се са њима суочавати када је у питању претећи превремени порођај* . 55. Гинеколошко-акушерска недеља СЛД, Зборник радова,Београд. 2011; 558-564.

4. Алексић Величковић В, Штерић М, Младеновић-Богдановић З, Берисавац М, Акшам С, Петронијевић М, Опалић Ј. *Инциденца неуспелих индукција порођаја као индикација за царски рез у периоду од 2006. год. – 2010. год. у КГА КЦС Београд,* 55. Гинеколошко-акушерска недељаСЛД, Зборник радова, Београд. 2011; 704-712.

5. Ђорђевић С, Берисавац М, Марковић Н, Алексић Величковић В, Ковачевић-Вуколић Љ, Љуштина С, Јевђић Л. *Профилактичка антикоагулантна терапија у припреми болесница са малигним обољењима гинеколошких органа за оперативни захват*, 55. Гинеколошко-акушерска недељаСЛД,Зборник радова, Београд. 2011; 314-320.

6. Берисавац М, Љуштина С, Марковић Н, Алексић Величковић В, Ковачевић-Вуколић Љ.. *Посттерминска трудноћа. Када и како завршити порођај*? 55. Гинеколошко-акушерска недељаСЛД, Зборник радова,Београд. 2011; 552-557.

7. Величковић Алексић В, Берисавац М, Аргировић Р, Марковић Н, Спарић Р, Ђорђевић С. *Царски рез после претходних операција на цервиксу утеруса.* 54. Гинеколошко-акушерска недељаСЛД, Зборник радова;Београд. 2010; 317-320

8. Марковић Н, Берисавац М, Терзић М, Величковић Алексић В, Спарић Р, Ђорђевић С, Рашлић Ж. *Претермински порођај плода са карличном презентацијом- царски рез да или не?* 54 Гинеколошко-акушерска недеља СЛД, Зборник радова,Београд. 2010; 87-91.

9. Величковић С, Величковић Алексић В, Стојановић З. *Видеолапароскопска хирургија у дијагностици и лечењу гинеколошких обољења на одељењу гинекологије ЗЦ у Краљеву*. 45 Гинеколошко-акушерска недеља СЛД, Зборник радова, Београд. 2001; 502-505.

10. Величковић С, Величковић Алексић В, Стефановић Д, Стојановић З. *Видеолапароскопија и ултразвучни скалпел у оперативном разрешавању ванматеричне трудноће*. Нишки Гинеколошко-акушерски дани. Зборник радова,Ниш. 2000; 33-36

11. Величковић С, Величковић Алексић В, Стефановић Д, Стојановић З. *Ектопична трудноћа: 5-годишње искуство гинеколошког одељења службе за здравствену заштиту жена ЗЦ Студеница Краљево*. Нишки Гинеколошко-акушерски дани, Зборник радова,Ниш. 2000; 57-60.

12. Величковић С, Стефановић Д, Симић Т, Танасковић М, Величковић Алексић В, Драшковић М. *Вишеплодна трудноћа и порођај*. 41 Гинеколошко-акушерска недеља.СЛД, Зборник радова;Београд. 1997; 141-144.

Саопштења са скупова националног значаја штампана у изводу М 64

1. Алексић Величковић В, Берисавац М, Штерић М, Стаменковић-Дуканац Ј. *Перинатални исход трудноће старе 23 гестационе недеље са превременом руптуром плодових овојака*. УГОСЦГ Гинекологија и перинаталогија. 2011; 43: 1-2: 26-27.

2. Величковић Алексић В, Берисавац М, Бошковић В, Ковачевић Вуколић Љ, Љуштина С, *Прекиди малолетничких трудноћа у првом триместру.* УГОСЦГ Гинекологија и перинаталогија 2010; 42: 3-4: 19-20

3. Марковић Н, Берисавац М, Величковић Алексић В, Максимовић М, Пилић И. *Вагинални порођај после претходног царског реза.* УГОСЦГ Гинекологија и перинатологија. 2010; 42; 1-2: 7-8.

4. Величковић С, Танасковић М, Величковић Алексић В, Драшковић М. *Улога и значај хистероскопије у дијагностици и оперативном третману полипа утеруса*. II Симпозијум Новине у хуманој репродукцији, Зборник радова,Београд 2007; 57-58.

5. Величковић С, Величковић Алексић В, Стојановић З, Роговић М. *Савремени третман ектопичне трудноће видеолапарскопијом и ултразвучним скалпелом*. 45 Гинеколошко-акушерска недеља СЛД , Зборник радова,Београд. 2001; 506-508.