

**MEDICINSKI
FAKULTET**

Adresa: Kruševac bb
81000 PODGORICA
CRNA GORA
Tel: +382 20 246 651
Fax: +382 20 243 842
url: www.ucg.ac.me/medf
E-mail: infomedf@ac.me



**MEDICAL
FACULTY**

Address: Krusevac bb
81000 PODGORICA
MONTENEGRO
Phone: +382 20 246 651
Fax: +382 20 243 842
url: www.ucg.ac.me/medf
E-mail: infomedf@ac.me

Broj: 1923/13-1
Podgorica, 12.12.2023. godine

**Univerzitet Crne Gore
Odbor za doktorske studije
n/r predsjedniku – prof. dr Borisu Vukićeviću**

Poštovani,

U skladu sa stavom 3 člana 35 i tačkom 3.6. Vodiča za doktorske studije, dostavljamo Odluku Vijeća Medicinskog fakulteta o usvajanju Izvještaja Komisije za ocjenu prijave doktorske disertacije (obrazac D1) i inoviranu prijavu teme doktorske disertacije, doktoranda dr pharm Bojane Zorić.

S poštovanjem,

**MEDICINSKI FAKULTET
DEKAN,**

Prof. dr Miodrag Radunović

UNIVERZITET CRNE GORE
MEDICINSKI FAKULTET
Broj: 1923/13
Podgorica, 07.12.2023. godine

Na osnovu člana 64 stav 2 tačka 9 Statuta Univerziteta Crne Gore, a u skladu sa članom 35 Pravila doktorskih studija (Bilten UCG broj: 513/20 i 561/22), Vijeće Medicinskog fakulteta na sjednici održanoj 07.12.2023. godine donijelo je

ODLUKU

1. Usvaja se Izvještaj Komisije za ocjenu prijave doktorske disertacije kandidata dr pharm Bojane Zorić, broj: 1677/7-1 od 16.11.2023. godine.
2. Predlaže se Senatu UCG da prihvati kao podobnu doktorsku tezu pod nazivom „**Procjena udruženosti biohemijskih markera oksidativnog stresa i varijacije gena za gojaznost kod gojaznih i negojaznih žena sa insulinskom rezistencijom u populaciji Crne Gore**“ kandidata dr pharm Bojane Zorić.
3. Odluka Vijeća, Izvještaj Komisije iz tačke 1 ove odluke i inovirani obrazac Prijave teme doktorske disertacije (obrazac PD broj: 1677/7-2 od 16.11.2023. godine), dostavlja se Centru za doktorske studije i Senatu Univerziteta Crne Gore, na dalju realizaciju.

O B R A Z L O Ž E N J E

Dr pharm Bojana Zorić podnijela je prijavu teme doktorske disertacije pod nazivom “Procjena udruženosti biohemijskih markera oksidativnog stresa i varijacija gena za gojaznost i nastanak ovarijalnog i endometrijalnog karcinoma kod žena sa insulinskom rezistencijom” dana 04.07.2023. godine (Broj prijave: 955).

Vijeće Medicinskog fakulteta na sjednici održanoj 20.10.2023. godine imenovalo je Komisiju za ocjenu prijave doktorske disertacije, kandidata dr med Marka Vukovića u sastavu: prof. dr Milica Martinović, prof. dr Snežana Pantović, prof. dr Snežana Vujošević, prof. dr Saša Raičević, prof. dr Olivera Miljanović.

Kandidatkinja je pred navedenom Komisijom javno obrazložila ciljeve i očekivane rezultate, odnosno izložila istraživački program doktorske teze, dana 06.11.2023. godine. Komisija je podnijela Vijeću Medicinskog fakulteta Izvještaj o ocjeni podobnosti doktorske disertacije broj:1677/7-1 od 16.11.2023. godine I predložila izmjenu naslova i to: “Procjena udruženosti biohemijskih markera oksidativnog stresa i varijacije gena za gojaznost kod gojaznih i negojaznih žena sa insulinskom rezistencijom u populaciji Crne Gore», koju je kandidatkinja prihvatila i dostavila novi obrazac prijave teme broj: 1677/7-2 od 16.11.2023. godine.

Vijeće Medicinskog fakulteta na sjednici održanoj 07.12.2023. godine, nakon razmatranja izvještaja Komisije broj: 1677/7-1 od 16.11.2023. godine, odlučilo je kao u dispozitivu ove odluke.

VIJEĆE MEDICINSKOG FAKULTETA
PREDSJEDAVAJUĆI,
Prof. dr Miodrag Radunović, dekan



UNIVERZITET CRNE GORE
MEDICINSKI FAKULTET
Broj: 1677/7
Podgorica, 20.10.2023. godine

Na osnovu člana 64 stav 1 tačka 9 Statuta Univerziteta Crne Gore i člana 32 a Pravila doktorskih studija (Bilten Univerziteta Crne Gore 513/20 i 561/22) a na osnovu Saglasnosti Odbora za doktorske studije broj: 01/2-848/3 od 18.09.2023. godine na Predlog Vijeća Medicinskog fakulteta broj: 1164/10 od 07.09.2023. godine, Vijeće Medicinskog fakulteta na elektronskoj sjednici održanoj 19-20.10.2023. godine, donijelo je

ODLUKU

I

Usvaja se Prijava teme doktorske disertacije broj: 955 od 04.07.2023. godine i imenuje Komisija za ocjenu prijave doktorske disertacije pod nazivom „**Procjena udruženosti biohemijskih markera oksidativnog stresa i varijacija gena za gojaznost i nastanak ovarijalnog i endometrijskog karcinoma kod žena sa insulinskom rezistencijom**“, kandidata **dr pharm Bojane Zorić**, u sastavu:

1. Prof. dr Milica Martinović, redovna profesorica Medicinskog fakulteta Univerziteta Crne Gore, predsjednik
2. Prof.dr Snežana Pantović, vanredna profesorica Medicinskog fakulteta Univerziteta Crne Gore, mentor-član
3. Prof. dr Snežana Vujošević, redovna profesorica Medicinskog fakulteta Univerziteta Crne Gore, član
4. Prof. dr Saša Raičević, redovni profesor Medicinskog fakulteta Univerzitea Crne Gore, član
5. Prof. dr Olivera Miljanović, redovna profesorica Medicinskog fakulteta Univerziteta Crne Gore, član

II

Kandidatkinja je obavezna pred Komisijom za ocjenu prijave doktorske disertacije javno obrazložiti ciljeve i očekivane rezultate, odnosno izloži istraživački program sa uslovima za uspješan završetak disertacije, u roku od 30 dana od dana imenovanja komisije.

Komisija je dužna da dostavi Izvještaj koji sadrži ocjenu prijave doktorske disertacije Vijeću Medicinskog fakulteta, u roku od 10 dana od dana javnog izlaganja kandidatkinje iz tačke 1 ove Odluke.

III

Odluka stupa na snagu danom donošenja.

VIJEĆE MEDICINSKOG FAKULTETA
PREDSJEDAVAJUĆI

Prof. dr Miodrag Radunović, v.f. dekana

Dostavljeno:
-članovima komisije
-Kandidatu
-Studentskoj službi



OCJENA PRIJAVE DOKTORSKE TEZE I KANDIDATA

OPŠTI PODACI O DOKTORANDU	
Titula, ime i prezime	Dr pharm Bojana Zorić
Fakultet	Medicinski fakultet
Studijski program	Farmacija
Broj indeksa	14/19
Podaci o magistarskom radu	
NASLOV PREDLOŽENE TEME	
Na službenom jeziku	Procjena udruženosti biohemijskih markera oksidativnog stresa i varijacije gena za gojaznost kod gojaznih i negojaznih žena sa insulinskom rezistencijom u populaciji Crne Gore
Na engleskom jeziku	Assessment of the association of biochemical markers of oxidative stress and gene variations for obesity in obese and non-obese women with insulin resistance in the population of Montenegro
Datum prihvatanja teme i kandidata na sjednici Vijeća organizacione jedinice	07.12.2023.
Naučna oblast doktorske disertacije	Medicina/Medicinska biohemija
Za navedenu oblast matični su sljedeći fakulteti	
Na Univerzitetu Crne Gore - Medicinski fakultet - Studijski program Medicina	
A. IZVJEŠTAJ SA JAVNE ODBRANE POLAZNIH ISTRAŽIVANJA DOKTORSKE DISERTACIJE	
<p>Javna odbrana polaznih istraživanja i izalaganje istraživačkog programa (ciljevi i očekivani rezultati) doktorske disertacije kandidata dr pharm Bojane Zorić, pod nazivom „, Procjena udruženosti biohemijskih markera oksidativnog stresa i varijacija gena za gojaznost kod gojaznih i negojaznih žena sa insulinskom rezistencijom u populaciji Crne Gore“ održana je 06.11.2023g. u 11 h u Sali broj 10 na Medicinskom fakultetu Univerziteta Crne Gore, i to pred komisijom u sastavu :</p> <ol style="list-style-type: none">1. Prof. dr Milica Martinović, redovna profesorica na Medicinskom fakultetu UCG u Podgorici, Crna Gora; predsjednica komisije;2. Prof. dr Snežana Pantović, vanredna profesorica na Medicinskom fakultetu UCG u Podgorici, Crna Gora; Mentor;3. Prof. dr Snežana Vujošević, redovna profesorica na Medicinskom fakultetu UCG u Podgorici; Crna Gora; član komisije;4. Prof. dr Saša Raičević, redovni profesor na Medicinskom fakultetu UCG u Podgorici ; Crna Gora, član komisije;5. Prof. dr Olivera Miljanović, redovna profesorica na Medicinskom fakultetu UCG u	

Podgorici, Crna Gora; član komisije;

U uvodnom dijelu dvadesetminutnog izlaganja, kandidatkinja je obrazložila temu rada, dala pregled dosadašnjih istraživanja u oblasti, predstavila metodologiju rada, pojasnila ciljeve i hipoteze istraživanja i izložila očekivane rezultate.

Nakon izlaganja kandidatkinje, članovi komisije su otvorili diskusiju, postavili pitanja na koja je kandidatkinja uspješno odgovorila.

Članovi komisije su dali komentare i sugestije na prijavljenu temu i to:

1. Potrebno je korigovati u metodologiji rada ispitivane varijacije gena na način da se istraživanje sprovede samo za gene koji su u vezi sa gojaznošću i insulinskom rezistencijom

2. Potrebno je izmijeniti naziv teme kako bi adekvatno pratio navedene izmjene u radu.

Kandidatkinja je prihvatila navedene sugestije i iste uvrstila u novu prijavu teme doktorske disertacije.

Komisija je jednoglasno donijela odluku da je kandidatkinja dr pharm Bojana Zorić uspješno odbranila polazna istraživanja i istraživački program doktorskih studija.

Javna odbrana je završena u 12:30 h.

B. OCJENA PRIJAVE TEME DOKTORSKE DISERTACIJE

B1. Obrazloženje teme

Žene sa insulinskom rezistencijom (IR) imaju povećano lučenje insulina, a smanjenu osjetljivost ćelija na insulin. IR je jedan od vodećih faktora koji dovodi do predijabetesa, dijabetesa tip 2, sindroma policističnih jajnika i metaboličkog sindroma. Prema epidemiološkim studijama IR se smatra značajnim faktorom rizika za nastanak karcinoma endometrijuma. Udružena je sa gojaznošću, koja je u Evropi dostigla epidemiološke proporcije sa prevalencom većom od 54% kod žena. Prevalenca dijabetesa odraslih za Crnu Goru prelazi 11%. Trenutno se procjenjuje da je u Crnoj Gori preko 50 000 osoba u stanju dijabetesa. A smatra se da svakoj trećoj oboljeloj odrasloj osobi dijabetes još nije otkriven (<https://www.ijzcg.me/me/savjeti/osnovne-informacije-o-secernoj-bolesti>). Navedeni podaci ukazuju na činjenicu da je gojaznost i dijabetes tip 2 predstavljaju gorući javno zdravstveni problem.

Prema World Health Organization (WHO), gojaznost i prekomjerna težina definišu se kao abnormalno ili prekomjerno nakupljanje masti, koje predstavlja rizik po zdravlje. Procenat masti kod žena >33% i/ili indeks tjelesne mase (BMI) ≥ 25 smatra se prekomjernom težinom. (1,2,3)

Insulinska rezistencija (IR) fiziološki se definiše kao stanje smanjene osjetljivosti tkiva na visoke nivoe insulina i smatra se patogenim pokretačem mnogih savremenih bolesti, među kojima su metabolički sindrom, nealkoholna masna jetra, ateroskleroza i dijabetes tip 2. Povišene vrijednosti insulin smanjuju nivoe vezujućih protein faktora rasta insulin (IGFBP1 i IGFBP2), što rezultira povišenim vrijednostima insulinu sličan faktor rasta (IGF1-Insulin-like growth factor 1). IGF1 se sintetiše u jetri, ali i u mnogim ekstra hepatičnim tkivima, imajući endokrinu, autokrinu i parakrinu ulogu faktora rasta na ćelije. Insulin i IGF1 inhibiraju sintezu globulina koji vezuje polne hormone (SHBG) i reguliše njihovu biološku aktivnost, što dovodi do povećanih vrijednosti estrogena i androgena. Nizak nivo SHBG u serumu se smatra biomarkerom metaboličkih abnormalnosti, povezan je sa hiperandrogenizmom (HA) i poremećajem glukoze i lipida kod pacijenata sa sindromom policističnih jajnika. (4,5,6,7) Predominacija estrogena u odnosu na progesterone povećava rizik od endometrijalne hiperplazije i karcinoma, koji djeluje proliferativno na ćelije endometrijuma. Insulin djelovanjem na hipofizu pospješuje sekreciju lutenizirajućeg hormona (LH) i povećava

osjetljivost nadbubrežne žlijezde na adrenokortikotropni hormon, što doprinosi povećanju lučenja adrenalnih androgena. Pored toga insulin i insulin sličan faktor rasta insulina (IGF1) sinergistički djeluju na theca ćelije u jajnicima u pravcu povećanja proizvodnje androgena. U masnom tkivu odvija se aromatizacija androgena u estrogene, što predstavlja jedan od faktora rizik za nastanak tumora endometrija. (8)

Kod gojaznosti javlja se oslobađanje adipokina u zavisnosti od povećanja mase masnog tkiva, što dovodi do hronične upale i oksidativnog stresa, koji oštećuje velike biomolekule kao što su proteini, DNK i lipidi. Mehanizmi antioksidativne zaštite igraju ulogu u minimiziranju efekata oksidativnog stresa intracelularnom i ekstracelularnom odbranom. Postoje dva pod sistema koja integrišu antioksidativni odbrambeni sistem: prvi je povezan sa aktivnošću nekoliko enzima kao što su glutation peroksidaza, glutation reduktaza, glutation S-transferaza, superoksid dizmutaza i katalaza, dok drugi sistem čine neenzimski antioksidanti kao što su mokraćna kiselina, bilirubin, tokoferol, askorbat, glutation i ubihinon. U procjeni integriteta funkcije svih prisutnih antioksidanasa (enzimskih – prva linija antioksidativne zaštite i neenzimskih – sekundarna linija odbrane) u plazmi izuzetno je koristan marker totalni antioksidativni status (TAS). Pojedinačni neenzimski markeri koji se mogu određivati su mokraćna kiselina i bilirubin. Mokraćna kiselina ima dvostruku ulogu, kao antioksidant i kao pro-oksidant. Antioksidativnu ulogu ostvaruje ekstracelularno uz pozitivnu korelaciju sa totalnim antioksidativnim statusom (TAS). Mokraćna kiselina čuva i pojačava ekstracelularnu aktivnost superoksid dizmutaze (SOD), antioksidantnog enzima koji uklanja superoksid anjone (O_2^-), pretvaranjem ovog slobodnog radikala u kiseonik (O_2) i vodonik peroksid (H_2O_2). Uklanjanjem O_2^- , sprečava se njegova reakcija sa azot oksidom (NO) i blokira se stvaranje peroksi nitrita ($ONOO^-$) koji stupaju u interakciju sa skoro svim ćelijskim strukturama uzrokujući ozbiljna oštećenja ćelije. Insulinska rezistencija dovodi do smanjenog izlučivanja mokraćne kiseline mehanizmom povećane apsorpcije natrijuma u renalnim tubulima, što dovodi do hiperurikemije a time i do oksidativnog stresa. Intracelularno, mokraćna kiselina ima pro-oksidativnu ulogu kroz aktiviranje NAD fosfatoksidaze, koja primarno doprinosi proizvodnji reaktivnih vrsta kiseonikovih radikala (ROS), kao i kroz aktivaciju oksidacije lipida posredovane peroksi nitritom i stimulacijom proinflamatornih citokina. (9,10,11,12,13,14,15,17,18)

Istraživanja pokazuju da je nivo bilirubina niži kod gojazanih sa $BMI \geq 25$, odnosno da su vrijednosti bilirubina u negativnoj korelaciji sa gojaznošću kod gojaznih žena. Pretpostavlja se da su razlozi za navedeno povećana aktivnost glukouronil transferaze u jetri, koja ima ulogu povećane utilizacije bilirubina iz krvi u hepatocite u kojima se konjuguje. Tako konjugovan se kataboliše u urobilinogen u crijevima. Istraživanja pokazuju da povećanje vrijednosti urobilinogena pozitivno koreliraju sa gojaznošću, naročito sa povećanjem visceralne gojaznosti, što bilirubin i urobilinogen svrstava u potencijalne prognostičke markere od značaja za praćenje pogoršanje komorbiditete kod gojaznih. Bilirubin ima ulogu antioksidanta u fiziološkim koncentracijama u plazmi koje se kreću u rasponu od 1.2 do 0.2 mg/dL. Bilirubin uklanja reaktivne vrste kiseonika (ROS) oksidacijom u biliverdin, koji se ponovo vraća u bilirubin uz pomoć biliverdin reduktaze. Pored te direktne aktivnosti za uklanjanje ROS-a, bilirubin smanjuje oksidativni stres, intracelularno u adipocitima, inhibiranjem NADPH oksidaze, makrofagnog enzima i glavnog izvora oksidativnog stresa u masnom tkivu. (14,15,16,17,18)

Povećanje makrofaga u masnom tkivu uslovljeno je postojanjem slobodnih masnih kiselina, holesterola i lipopolisaharida, što održava hroničn uupalu niskog stepena. Makrofage M1 proizvode citokine TNF- α i IL-6, koji učestvuju u odgovoru Th1 ćelija značajnih za imunitet. IL-6 redukuje adipogenezu, za razliku od TNF- α koji može da je inhibira, a zajedničko im je indukovanje insulinske rezistencije, dok u tumorskom tkivu, kancerogenim ćelijama mijenjaju svojstva, stimulišući ih da sekretuju faktore rasta i inflamatorne citokine, među kojima se izdvaja TNF- α , koji pojačava aktivaciju onkogeno, angiogenezu, invaziju tumorskih ćelija i

migraciju. Pregledom literature uočeno je da IL-6 ima uticaja na preživljavanje tumorskih ćelija, utičući na progresiju tumora, što ga zajedno sa TNF- α čini značajnim prognostičkim marker. (17,19, 20, 21,22)

Kako je gojaznost rezultat multifaktorske interakcije neuroendokrinih, metaboličkih i genetičkih faktora, analiza gena važnih za ekspresiju i aktivnost masnog tkiva i insulinske rezistencije može nam omogućiti otkrivanje varijanti gena odgovornih za individualne varijacije u našem indeksu tjelesne mase, lipidnom status i glikemiji. Dosadašnja istraživanja identifikovala su nekoliko gena čiji proteinski produkti imaju važnu ulogu u sintezi i funkciji masnog tkiva i razvoju insulinske rezistencije kao što je istraživanje polimorfizama adiponektin gena (rs2241766) i mass and obesity associated gena (FTO) (rs9939609). Mutacija rs2241766 nastaje zamjenom baze timina guaninom, na poziciji 45 egzona 2 adiponektina, čime je uzrokovano smanjenje adiponektina u serumu, smanjuje se fosforilacija ciljanih proteina, adenozin monofosfat protein kinazom (AMPK), koja učestvuje u metabolizmu lipida i ugljenih hidrata u mnogim tkivima. Zbog toga dolazi do povećanja sinteze masnih kiselina, triglicerida, glikogena, a smanjuje se β -oksidacija masnih kiselina i preuzimanje glukoze, što za posljedicu ima promjenu energetskog metabolizma, koji se ogleda u još većem povećanju tjelesne mase, naročito kod već gojaznih osoba. Genome-wide association studies (GWAS) je prijavilo da FTO (rs9939609) ima korelaciju sa gojaznošću, čija mutacija se nalazi na prvom intronu FTO gena. U tim studijama su praćene incidence genotipova AA, AT i TT, prema kojima najveću incidence kod gojaznih ima AA genotip. Studije radene u Evropi navode incidence postojanja najmanje jednog alela rizika za razvoj gojaznosti u 50% do 63% ispitivanih genotipova. U studiji u Turskoj, u odnosu i između gojaznosti, metaboličkog sindroma i parametara povezanih sa insulinom, usljed postojanja polimorfizma (rs9939609) FTO gena, utvrđena je incidence genotipova AA (15,7%), AT (48,3%) i TT (36%) u ispitivanoj populaciji, gdje se A alel smatra prediktorom gojaznosti. (23,24,25,26)

B2. Cilj i hipoteze

1. Utvrditi razliku između kliničkih znakova i karakteristika tjelesne kompozicije (količine visceralnog masnog tkiva) u ispitivanoj grupi gojaznih i negojaznih žena sa insulinskom rezistencijom
2. Utvrditi razliku između metaboličkog profila, specifičnih markera i parametara oksidativnog stresa/antioksidativnog odgovora unutar ispitivane grupe gojaznih i negojaznih žena sa insulinskom rezistencijom
3. Utvrditi povezanost pojedinih specifičnih markera, parametara inflamacije i oksidativnog stresa/antioksidativnog odgovora sa insulinskom rezistencijom u ispitivanoj grupi gojaznih i negojaznih žena
4. Utvrditi prevalencije polimorfizama u genima adiponektin (rs2241766) i FTO (rs9939609) i njihovih kombinacija u ispitivanoj grupi gojaznih i negojaznih žena sa insulinskom rezistencijom
5. Utvrditi povezanost prisutnih polimorfizama u genima adiponektina (rs2241766) i FTO (rs9939609) sa insulinskom rezistencijom u ispitivanoj grupi gojaznih i negojaznih žena
6. Utvrditi povezanost prevalencije polimorfizama u genima adiponektina (rs2241766) i FTO (rs9939609) i biohemijskih parametara od značaja za metabolizam i nastanak insulinske rezistencije i gojaznosti u ispitivanoj grupi gojaznih i negojaznih žena

Na osnovu navedenih ciljeva postavljene su sljedeće hipoteze:

1. Postoji razlika između kliničkih znakova i karakteristika tjelesne kompozicije (količine visceralnog masnog tkiva) u ispitivanoj grupi gojaznih i negojaznih žena sa insulinskom rezistencijom
2. Postoji razlika između metaboličkog profila, specifičnih markera i parametara oksidativnog stresa/antioksidativnog odgovora unutar ispitivane grupe gojaznih i negojaznih žena sa insulinskom rezistencijom
3. Postoji povezanost pojedinih specifičnih markera, parametara inflamacije i oksidativnog stresa/antioksidativnog odgovora sa insulinskom rezistencijom u ispitivanoj grupi gojaznih i negojaznih žena
4. Postoji prevalenca polimorfizama u genima adiponektina (rs2241766) i FTO (rs9939609) i njihovih kombinacija u ispitivanoj grupi gojaznih i negojaznih žena sa insulinskom rezistencijom
5. Postoji povezanost polimorfizama u genima adiponektina (rs2241766) i FTO (rs9939609) sa insulinskom rezistencijom u ispitivanoj grupi gojaznih i negojaznih žena
6. Postoji povezanost prevalencije polimorfizama u genima adiponektina (rs2241766) i FTO (rs9939609) i biohemijskih parametara od značaja za metabolizam i nastanak insulinske rezistencije i gojaznosti u ispitivanoj grupi gojaznih i negojaznih žena

B3. Metode i plan istraživanja

Za sprovođenje istraživanja tražiće se saglasnost Etičkog komiteta Medicinskog fakulteta Univerziteta Crne Gore, Kliničkog centra Crne Gore i Opšte bolnice u Nikšiću. U istraživanju učestvovalaće 100 žena reproduktivne dobi od 18 do 50 godina, sa dijagnozom insulinske rezistencije i prekomjerne tjelesne mase (gojazne) i negojazne, koje dolaze na pregled e kod ginekologa. Svim učesnicima u istraživanju pored uzete detaljne anamneze, uzorkovaće se krv u skladu sa Dobrom laboratorijskom praksom i odradiće se OGTT test i izračunati HOMA-IR index u cilju dijagnostikovanja insulinske rezistencije, u Centru za laboratorijsku dijagnostiku Kliničkog centra Crne Gore i Laboratorijskom centru (Biohemijsko hematološka laboratorija) u bolnici u Nikšiću.

Kriterijumi za uključivanje u istraživanje su: gojazne i negojazne žene sa dijagnozom insulinske rezistencije.

Kriterijumi za isključenje iz istraživanja su: ispitanice sa dijagnozom psihijatrijskih i neuroloških bolesti, akutnim i hroničnim oboljenjima bubrega, oboljenjima jetre, sa dijagnozom Diabetes mellitus tip 1, prisustvo svih vrsta karcinoma, oboljenjima štitaste žlijezde, trudnoća i operativni zahvati rađeni unazad tri mjeseca.

Grupa ispitanika biće podjeljena u dvije podgrupe:

- Ispitanice sa procentom masti >33% i/ili BMI ≥ 25
- Ispitanice sa procentom masti <33% i/ili BMI ≤ 25

Sve ispitanice biće upoznate sa protokolom istraživanja, njihovim pravima, nakon čega potpisuju Informisani pristanak ispitanika ukoliko odluče da učestvuju u istraživanju.

Svimi ispitanicima biće odradeno sljedeće:

- a) Antropometrijska mjerenja (obimstruka, visina, tjelesna masa (BMI), mjerenja visceralne gojaznosti prema Harvard Medical School (≥35 inča ili ≥ 88.9 cm obim struka u nivou

- pupka); (27)
- b) Anketa prema protokolu Instituta za javno zdravlje CG (demografske karakteristike, kulturološke navike u ishrani, učestalost konzumiranja namirnica po grupama u odnosu na piramidu ishrane, alergije, ličnu anamnezu- zdravstven ostanje, riziko faktore, higijensko dijetetske navike i porodičnu anamnezu);
- c) uzorkovanje i obrada biološkog materijala vršiće se u skladu sa pravilima Dobre laboratorijske prakse. Od biološkog materijala uzorkovaće se krv iz kubitalne vene za biohemijske i genetske analize. Krvće se centrifugirati, alikvotirati i skladištiti na -20°C do početka analiza. Od biohemijsko laboratorijskih analiza radiće se: kompletna krvna slika, mjerenje glukoze, endogena rezerva insulina, lipidni status, aktivnost enzima jetre (AST, ALT), apolipoproteini Apo A1, Apo B100, lipoprotein (a), index ateroskleroze, glikozilirani hemoglobin (HbA1C), totalni antioksidantni status (TAS), enzime antioksidativne zaštite (katalaza, glutation peroksidaza), urea, mokraćna kiselina, bilirubin, feritin, hormoni (kortizol, prolaktin, progesteron, testosteron, estradiol, androstendion, folikulostimulirajući hormon (FSH), lutenizirajući hormone (LH), globulini koji vezuju polne hormone (SHGB)), inhibin B, IL-6 i TNF- α .
- d) Procjena insulinske rezistencije
U svijetu zlatni standard koji daje uvid u dinamiku djelovanja insulina i glukoze je euglikemijska-hiperinsulinemijska clamp tehnika. Tehnika uključuje kontinuiranu infuziju insulina i glukoze kako bi se održala euglikemija (normalan nivo glukoze u krvi) i hiperinsulinsko stanje. Brzina infuzije glukoze potrebna za održavanje euglikemije smatra se mjerom insulinske osjetljivosti (28). U Crnoj Gori se navedena metoda ne radi te će se procjena insulinske rezistencije raditi određivanjem HOMA-IR indeksa insulinske rezistencije (Homeostasis Model Assessment Of Insulin Resistance), koji procjenjuje stanje funkcije postojećih beta ćelija i insulinske senzitivnosti kao procenat u odnosu na normalnu referentnu populaciju. Vrijednost indeksa se računa putem formule: $\text{glukoza natašte (mmol/L)} \times \text{bazalni insulin (mU/L)} / 22.5$, koji se preračunava nakon odrađenog OGTT (oral glukosa tolerance testa) prema protokolu Dobre laboratorijske prakse. Opšte prihvaćena referentna vrijednost HOMA-IR indeksa za odrasle iznosi <1 , dok vrijednosti >3 ukazuje na prisustvo insulinske rezistencije.
- e) Određivanje polimorfizama zadatih gena: adiponektina (rs2241766) i FTO (rs9939609) radiće se na Real Time PCR.
- f) Obrada dobijenih podataka radiće se u SPSS programu.

B4. Naučni doprinos

Praktičan značaj ovakvih istraživanja jeste bolje razumijevanje molekularnih osnova gojaznosti i razvoja insulinske rezistencije, otkrivanje novih strategija za terapiju gojaznosti i njenih komorbiditeta. Ovakav pristup je od javno zdravstvenog značaja za Crnu Goru, uvažavajući činjenice da broj gojaznih i onih sa Diabetes mellitusom u Crnoj Gori poprima razmjere epidemije u odnosu na broj stanovnika (negdje oko 10 % populacije Crne Gore a koja broji oko 600 000). Rezultati našeg istraživanja pored navedenog imajuće značaj i za bolje razumijevanje genetskih i negenetskih modifikovanih riziko faktora, njihove fiziologije i funkcije u razvoju komorbiditeta u insulinskoj rezistenciji uzrokovanih gojaznošću. U ovom istraživanju moguća su ograničenja u dijelu da određeni broj ispitanica mogu biti na terapiji metforminom koji utiče na promjene u metaboličkim putevima i za taj dio rezultata vodiće se posebna pažnja u njihovoj analizi i interpretaciji. Sa druge strane broj ispitanica koje su uključene u istraživanje možda neće biti dovoljan da se izvedu statistički značajni zaključci u dijelu rezultata koji mogu ukazivati na iznalaženje novih prediktivnih dijagnostičkih markera, terapijskih i preventivnih protokola za šta će biti neophodna dalja klinička istraživanja.

B5. Finansijska i organizaciona izvodljivost istraživanja

Predloženo istraživanje biće sprovedeno u navedenim institucijama Crne Gore, i kao takvo je finansijski i organizaciono izvodljivo.

Mišljenje i prijedlog komisije

Nakon uvida u priloženu dokumentaciju, novu podnesenu prijavu teme doktorske disertacije javnog izlaganja kandidatkinje i nakon diskusije, Komisija je dala pozitivnu ocjenu podobnosti doktorske teme i kandidatkinje.

Komisija predlaže Vijeću Medicinskog fakulteta i Senatu Univerziteta Crne Gore da prihvate ovaj izvještaj i odobre nastavak istraživačkog rada na doktorskoj disertaciji.

Prijedlog izmjene naslova

Komisija predlaže da se naslov doktorske disertacije izmijeni iz: „Procjena udruženosti biohemijskih markera oksidativnog stresa i varijacija gena za gojaznost i nastanak ovarijalnog i endometrijalnog karcinoma kod žena sa insulinskom rezistencijom“ u „ Procjena udruženosti biohemijskih markera oksidativnog stresa i varijacija gena za gojaznost kod gojaznih i negojaznih žena sa insulinskom rezistencijom u populaciji Crne Gore.“

Prijedlog promjene mentora i/ili imenovanje drugog mentora

Nije bilo predloga za promjenu mentora ili imenovanja novog mentora





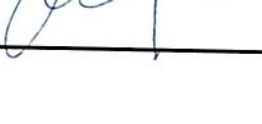

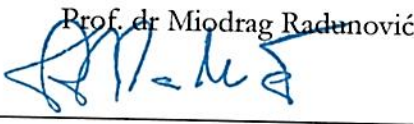
Planirana odbrana doktorske disertacije

Drugi kvartal 2024 godine , studijska 2023/2024 godina, zimski semestar

Izdvojeno mišljenje

Nije bilo izdvojenih mišljenja članova komisije

Ime i prezime

Napomena		
Nije bilo dodatnih napomena.		
ZAKLJUČAK		
Predložena tema po svom sadržaju odgovara nivou doktorskih studija.	DA	NE
Tema je originalan naučno-istraživački rad koji odgovara međunarodnim kriterijumima kvaliteta disertacije.	DA	NE
Kandidat može na osnovu sopstvenog akademskog kvaliteta i stečenog znanja da uz adekvatno mentorsko vođenje realizuje postavljeni cilj i dokaže hipoteze.	DA	NE
Komisija za ocjenu podobnosti teme i kandidata		
Prof. dr Milica Martinović, redovna profesorica na Medicinskom fakultetu UCG u Podgorici; predsjednica komisije;		
Prof. dr Snežana Pantović, vanredni profesorica na Medicinskom fakultetu UCG u Podgorici; Crna Gora; član komisije; Mentor;		
Prof. dr Snežana Vujošević, redovna profesorica na Medicinskom fakultetu UCG u Podgorici; Crna Gora; član komisije;		
Prof. dr Saša Raičević, redovni profesor na Medicinskom fakultetu UCG u Podgorici; Crna Gora; član komisije		
Prof. dr Olivera Miljanović, redovna profesorica na Medicinskom fakultetu UCG u Podgorici; Crna Gora; Član komisije		
U Podgorici 16.11.2023. godine		
 MP	Prof. dr Miodrag Radanović 	



MEDICINSKI FAKULTET			
Primljeno:	Broj	Prilog	Vrijednost
16-11. 2023	med	167717-2	

UNIVERZITET CRNE GORE
Obrazac PD: Prijavatedoktorskedisertacije

PRIJAVA TEME DOKTORSKE DISERTACIJE

OPŠTI PODACI O DOKTORANDU	
Titula, ime i prezime	dr pharm Bojana Zorić
Fakultet	Medicinski fakultet
Studijski program	Farmacija
Broj indeksa	14/19
Ime i prezime roditelja	Dragan Zorić
Datum i mjesto rođenja	20. 9.1995. Nikšić
Adresa prebivališta	V proleterska 37/A
Telefon	069/240-692
E-mail	bojana.zoric20@gmail.com
BIOGRAFIJA I BIBLIOGRAFIJA	
Obrazovanje	2019. – i dalje: student doktorskih studija Medicinskog fakulteta Univerziteta Crne Gore, studijski program Farmacija 2014-2019: Medicinski fakultet, Univerzitet Crne Gore, studijski program Farmacija; dobila zvanje Doktor farmacije 2010-2014: Gimnazija „Stojan Cerović” ; diploma Luča I
Radno iskustvo	2021.- i dalje: farmaceut u PZU „ Uniprom Pharm “ 2021. farmaceut u PZU „ Altmed” 2019-2021: farmaceut u PZU „ Holos”
Popis radova	Zorić B, Vojinović T. Farmakokinetički parametri od značaja za farmakološki tretman kod gojaznosti pedijatrijske populacije. Rad prihvaćen za Treći kongres farmaceuta u Crnoj Gori sa međunarodnim učešćem, 2019. godine.
NASLOV PREDLOŽENE TEME	
Na službenom jeziku	Procjena udruženosti biohemijskih markera oksidativnog stresa i varijacija gena za gojaznost kod gojaznih i negojaznih žena sa insulinskom rezistencijom u populaciji CrneGore
Na engleskom jeziku	Assessment of the association of biochemical markers of oxidative stress and gene variations for obesity in obese and non-obese women with insulin resistance in the population of Montenegro
Obrazloženje teme	
Žene sa insulinskom rezistencijom (IR) imaju povećano lučenje insulina, a smanjenu osjetljivost ćelija na insulin. IR je jedan od vodećih faktora koji dovodi do predijabetesa, dijabetesa tip 2, sindroma policističnih jajnika i metaboličkog sindroma. Prema epidemiološkim studijama IR se smatra značajnim faktorom rizika za nastanak karcinoma endometrijuma. Udružena je sa gojaznošću, koja je u Evropi dostigla epidemiološke proporcije sa prevalencom većom od 54% kod žena. Prevalenca dijabetesa odraslih za Crnu	

Goru prelazi 11%. Trenutno se procjenjuje da je u Crnoj Gori preko 50 000 osoba u stanju dijabetesa. A smatra se da svakoj trećoj oboljeloj odrasloj osobi dijabetes još nije otkriven (<https://www.ijzcg.me/me/savjeti/osnovne-informacije-o-secernojoj-bolesti>). Navedeni podaci ukazuju na činjenicu da je gojaznost i dijabetes tip 2 predstavljaju gorući javno zdravstveni problem.

Prema World Health Organization (WHO), gojaznost i prekomjerna težina definišu se kao abnormalno ili prekomjerno nakupljanje masti, koje predstavlja rizik po zdravlje. Procenat masti kod žena >33% i/ili indeks tjelesne mase (BMI)≥25 smatra se prekomjernom težinom. (1,2,3)

Pregled istraživanja

Insulinska rezistencija (IR) fiziološki se definiše kao stanje smanjene osjetljivosti tkiva na visoke nivoe insulina i smatra se patogenim pokretačem mnogih savremenih bolesti, među kojima su metabolički sindrom, nealkoholna masna jetra, ateroskleroza i dijabetes tip 2. Povišene vrijednosti insulina smanjuju nivoe vezujućih protein faktora rasta insulina (IGFBP1 i IGFBP2), što rezultira povišenim vrijednostima insulina sličan faktor rasta (IGF1-Insulin-like growth factor 1). IGF1 se sintetizira u jetri, ali i u mnogim ekstrahepatičnim tkivima, imajući endokrinu, autokrinu i parakrinu ulogu faktora rasta na ćelije. Insulin i IGF1 inhibiraju sintezu globulina koji vezuje polne hormone (SHBG) i regulišu njihovu biološku aktivnost, što dovodi do povećanih vrijednosti estrogena i androgena. Nizak nivo SHBG u serumu se smatra biomarkerom metaboličkih abnormalnosti, povezan je sa hiperandrogenizmom (HA) i poremećajem glukoze i lipida kod pacijenata sa sindromom policističnih jajnika. (4,5,6,7) Predominacija estrogena u odnosu na progesterone povećava rizik od endometrijalne hiperplazije i karcinoma, koji djeluje proliferativno na ćelije endometrija. Insulin djelovanjem na hipofizu pospješuje sekreciju luteinizirajućeg hormona (LH) i povećava osjetljivost nadbubrežne žlijezde na adrenokortikotropni hormon, što doprinosi povećanju lučenja adrenalnih androgena. Pored toga insulin i insulin sličan faktor rasta insulina (IGF1) sinergistički djeluju na theca ćelije u jajnicima u pravcu povećanja proizvodnje androgena. U masnom tkivu odvija se aromatizacija androgena u estrogene, što predstavlja jedan od faktora rizik za nastanak tumora endometrija. (8)

Kod gojaznosti javlja se oslobađanje adipokina u zavisnosti od povećanja mase masnog tkiva, što dovodi do hronične upale i oksidativnog stresa, koji oštećuje velike biomolekule kao što su proteini, DNK i lipidi. Mehanizmi antioksidativne zaštite igraju ulogu u minimiziranju efekata oksidativnog stresa intracelularnom i ekstracelularnom odbranom. Postoje dva pod sistema koja integrišu antioksidativni odbrambeni sistem: prvi je povezan sa aktivnošću nekoliko enzima kao što su glutathion peroksidaza, glutathion reduktaza, glutathion S-transferaza, superoksid dizmutaza i katalaza, dok drugi sistem čine neenzimski antioksidanti kao što su mokraćna kiselina, bilirubin, tokoferol, askorbat, glutathion i ubihinon. U procjeni integriteta funkcije svih prisutnih antioksidanasa (enzimskih – prva linija antioksidativne zaštite i neenzimskih – sekundarna linija odbrane) u plazmi izuzetno je koristan marker totalni antioksidativni status (TAS). Pojedinačni neenzimski markeri koji se mogu određivati su mokraćna kiselina i bilirubin. Mokraćna kiselina ima dvostruku ulogu, kao antioksidant i kao pro-oksidant. Antioksidativnu ulogu ostvaruje ekstracelularno uz pozitivnu korelaciju sa totalnim antioksidativnim statusom (TAS). Mokraćna kiselina čuva i pojačava ekstracelularnu aktivnost superoksid dizmutaze (SOD), antioksidantnog enzima koji uklanja superoksid anjone (O_2^-), pretvaranjem ovog slobodnog radikala u kiseonik (O_2) i vodonik peroksid (H_2O_2). Uklanjanjem O_2^- , sprečava se njegoova reakcija sa azot oksidom (NO) i blokira se stvaranje peroksi nitrata ($ONOO^-$) koji stupaju u interakciju sa skoro svim ćelijskim

strukturama uzrokujući ozbiljna oštećenja ćelije. Insulinska rezistencija dovodi do smanjenog izlučivanja mokraćne kiseline mehanizmom povećane apsorpcije natrijuma u renalnim tubulima, što dovodi do hiperurikemije a time i do oksidativnog stresa. Intracelularno, mokraćna kiselina ima pro-oksidativnu ulogu kroz aktiviranje NAD fosfatoksidaze, koja primarno doprinosi proizvodnji reaktivnih vrsta kiseonikovih radikala (ROS), kao i kroz aktivaciju oksidacije lipida posredovane peroksi nitritom i stimulacijom proinflamatornih citokina. (9,10,11,12,13,14,15,17,18)

Istraživanja pokazuju da je nivo bilirubina niži kod gojazanih sa $BMI \geq 25$, odnosno da su vrijednosti bilirubina u negativnoj korelaciji sa gojaznošću kod gojaznih žena. Pretpostavlja se da su razlozi za navedeno povećana aktivnost glukouronil transferaze u jetri, koja ima ulogu povećane utilizacije bilirubina iz krvi u hepatocite u kojima se konjuguje. Tako konjugovan se kataboliše u urobilinogen u crijevima. Istraživanja pokazuju da povećanje vrijednosti urobilinogena pozitivno koreliraju sa gojaznošću, naročito sa povećanjem visceralne gojaznosti, što bilirubin i urobilinogen svrstava u potencijalne prognostičke markere od značaja za praćenje pogoršanje komorbiditete kod gojaznih. Bilirubin ima ulogu antioksidanta u fiziološkim koncentracijama u plazmi koje se kreću u rasponu od 1.2 do 0.2 mg/dL. Bilirubin uklanja reaktivne vrste kiseonika (ROS) oksidacijom u biliverdin, koji se ponovo vraća u bilirubin uz pomoć biliverdin reduktaze. Pored te direktne aktivnosti za uklanjanje ROS-a, bilirubin smanjuje oksidativni stres, intracelularno u adipocitima, inhibiranjem NADPH oksidaze, makrofagnog enzima i glavnog izvora oksidativnog stresa u masnom tkivu. (14,15,16,17,18)

Povećanje makrofaga u masnom tkivu uslovljeno je postojanjem slobodnih masnih kiselina, holesterola i lipopolisaharida, što održava hroničn uupalu niskog stepena. Makrofage M1 proizvode citokine TNF- α i IL-6, koji učestvuju u odgovoru Th1 ćelija značajnih za imunitet. IL-6 redukuje adipogenezu, za razliku od TNF- α koji može da je inhibira, a zajedničko im je indukovanje insulinske rezistencije, dok u tumorskom tkivu, kancerogenim ćelijama mijenjaju svojstva, stimulišući ih da sekretuju faktore rasta i inflamatorne citokine, među kojima se izdvaja TNF- α , koji pojačava aktivaciju onkogeno, angiogenezu, invaziju tumorskih ćelija i migraciju. Pregledom literature uočeno je da IL-6 ima uticaja na preživljavanje tumorskih ćelija, utičući na progresiju tumora, što ga zajedno sa TNF- α čini značajnim prognostičkim marker. (17,19, 20, 21,22)

Kako je gojaznost rezultat multifaktorske interakcije neuroendokrinih, metaboličkih i genetičkih faktora, analiza gena važnih za ekspresiju i aktivnost masnog tkiva i insulinske rezistencije može nam omogućiti otkrivanje varijanti gena odgovornih za individualne varijacije u našem indeksu tjelesne mase, lipidnom status i glikemiji. Dosadašnja istraživanja identifikovala su nekoliko gena čiji proteinski produkti imaju važnu ulogu u sintezi i funkciji masnog tkiva i razvoju insulinske rezistencije kao što je istraživanje polimorfizama adiponektin gena (rs2241766) i mass and obesity associated gena (FTO) (rs9939609). Mutacija rs2241766 nastaje zamjenom baze timina guaninom, na poziciji 45 egzona 2 adiponektina, čime je uzrokovano smanjenje adiponektina u serumu, smanjuje se fosforilacija ciljanih proteina, adenzin monofosfat protein kinazom (AMPK), koja učestvuje u metabolizmu lipida i ugljenih hidrata u mnogim tkivima. Zbog toga dolazi do povećanja sinteze masnih kiselina, triglicerida, glikogena, a smanjuje se β -oksidacija masnih kiselina i preuzimanje glukoze, što za posljedicu ima promjenu energetskeg metabolizma, koji se ogleda u još većem povećanju tjelesne mase, naročito kod već gojaznih osoba. Genome-wide association studies (GWAS) je prijavilo da FTO (rs9939609) ima korelaciju sa gojaznošću,

čija mutacija se nalazi na prvom intronu FTO gena. U tim studijama su praćene incidence genotipova AA, AT i TT, prema kojima najveću incidence kod gojaznih ima AA genotip. Studije rađene u Evropi navode incidence postojanja najmanje jednog alela rizika za razvoj gojaznosti u 50% do 63% ispitivanih genotipova. U studiji u Turskoj, u odnosu i između gojaznosti, metaboličkog sindroma i parametara povezanih sa insulinom, usljed postojanja polimorfizma (rs9939609) FTO gena, utvrđena je incidence genotipova AA (15,7%), AT (48,3%) i TT (36%) u ispitivanoj populaciji, gdje se A alel smatra prediktorom gojaznosti. (23,24,25,26)

Cilj i hipoteze

Ciljevi istraživanja su:

1. Utvrditi razliku između kliničkih znakova i karakteristika tjelesne kompozicije (količine visceralnog masnog tkiva) u ispitivanoj grupi gojaznih i negojaznih žena sa insulinskom rezistencijom
2. Utvrditi razliku između metaboličkog profila, specifičnih markera i parametara oksidativnog stresa/antioksidativnog odgovora unutar ispitivane grupe gojaznih i negojaznih žena sa insulinskom rezistencijom
3. Utvrditi povezanost pojedinih specifičnih markera, parametara inflamacije i oksidativnog stresa/antioksidativnog odgovora sa insulinskom rezistencijom u ispitivanoj grupi gojaznih i ne gojaznih žena
4. Utvrditi prevalencije polimorfizama u genima adiponektin (rs2241766) i FTO (rs9939609) i njihovih kombinacija u ispitivanoj grupi gojaznih i negojaznih žena sa insulinskom rezistencijom
5. Utvrditi povezanost prisutnih polimorfizama u genima adiponektina (rs2241766) i FTO (rs9939609) sa insulinskom rezistencijom u ispitivanoj grupi gojaznih i negojaznih žena
6. Utvrditi povezanost prevalencije polimorfizama u genima adiponektina (rs2241766) i FTO (rs9939609) i biohemijskih parametara od značaja za metabolizam i nastanak insulinske rezistencije i gojaznosti u ispitivanoj grupi gojaznih i negojaznih žena

Na osnovu navedenih ciljeva postavljene su sljedeće hipoteze:

1. Postoji razlika između kliničkih znakova i karakteristika tjelesne kompozicije (količine visceralnog masnog tkiva) u ispitivanoj grupi gojaznih i negojaznih žena sa insulinskom rezistencijom
2. Postoji razlika između metaboličkog profila, specifičnih markera i parametara oksidativnog stresa/antioksidativnog odgovora unutar ispitivane grupe gojaznih i negojaznih žena sa insulinskom rezistencijom
3. Postoji povezanost pojedinih specifičnih markera, parametara inflamacije i oksidativnog stresa/antioksidativnog odgovora sa insulinskom rezistencijom u ispitivanoj grupi gojaznih i negojaznih žena
4. Postoji prevalencija polimorfizama u genima adiponektina (rs2241766) i FTO (rs9939609) i njihovih kombinacija u ispitivanoj grupi gojaznih i negojaznih žena sa insulinskom rezistencijom
5. Postoji povezanost polimorfizama u genima adiponektina (rs2241766) i FTO (rs9939609) sa insulinskom rezistencijom u ispitivanoj grupi gojaznih i negojaznih žena
6. Postoji povezanost prevalencije polimorfizama u genima adiponektina (rs2241766) i FTO

(rs9939609) i biohemijskih parametara od značaja za metabolizam i nastanak insulinske rezistencije i gojaznosti u ispitivanoj grupi gojaznih i negojaznih žena

Materijali, metode i plan istraživanja

Za sprovođenje istraživanja tražiće se saglasnost Etičkog komiteta Medicinskog fakulteta Univerziteta Crne Gore, Kliničkog centra Crne Gore i Opšte bolnice u Nikšiću. U istraživanju učestvovalaće 100 žena reproduktivne dobi od 18 do 50 godina, sa dijagnozom insulinske rezistencije i prekomjerne tjelesne mase (gojazne) i negojazne, koje dolaze na pregled e kod ginekologa. Svim učesnicima u istraživanju pored uzete detaljne anamneze, uzorkovaće se krv u skladu sa Dobrom laboratorijskom praksom i odradiće se OGTT test i izračunati HOMA-IR index u cilju dijagnostikovanja insulinske rezistencije, u Centru za laboratorijsku dijagnostiku Kliničkog centra Crne Gore i Laboratorijskom centru (Biohemijsko hematološka laboratorija) u bolnici u Nikšiću.

Kriterijumi za uključivanje u istraživanje su: gojazne i negojazne žene sa dijagnozom insulinske rezistencije.

Kriterijumi za isključenje iz istraživanja su: ispitanice sa dijagnozom psihijatrijskih i neuroloških bolesti, akutnim i hroničnim oboljenjima bubrega, oboljenjima jetre, sa dijagnozom Diabetes mellitus tip 1, prisustvo svih vrsta karcinoma, oboljenjima štitaste žlijezde, trudnoća i operativni zahvati rađeni unazad tri mjeseca.

Grupa ispitanika biće podjeljena u dvije podgrupe:

- Ispitanice sa procentom masti >33% i/ili BMI \geq 25
- Ispitanice sa procentom masti <33% i/ili BMI \leq 25

Sve ispitanice biće upoznate sa protokolom istraživanja, njihovim pravima, nakon čega potpisuju Informisani pristanak ispitanika ukoliko odluče da učestvuju u istraživanju.

Svimi spitanicima biće odrađeno sljedeće:

- a) Antropometrijska mjerenja (obimstruka, visina, tjelesna masa (BMI), mjerenja visceralne gojaznosti prema Harvard Medical School (\geq 35 inča ili \geq 88.9 cm obim struka u nivou pupka); (27)
- b) Anketa prema protokolu Instituta za javno zdravlje CG (demografske karakteristike, kulturološke navike u ishrani, učestalost konzumiranja namirnica po grupama u odnosu na piramidu ishrane, alergije, ličnu anamnezu- zdravstven ostanje, riziko faktore, higijensko dijetetske navike i porodičnu anamnezu);
- c) uzorkovanje i obrada biološkog materijala vršiće se u skladu sa pravilima Dobre laboratorijske prakse. Od biološkog materijala uzorkovaće se krv iz kubitalne vene za biohemijske i genetske analize. Krvće se centrifugirati, alikvotirati i skladištiti na -20°C do početka analiza. Od biohemijsko laboratorijskih analiza radiće se: kompletna krvna slika, mjerenje glukoze, endogena rezerva insulina, lipidni status, aktivnost enzima jetre (AST, ALT), apolipoproteini Apo A1, Apo B100, lipoprotein (a), index ateroskleroze, glikozilirani hemoglobin (HbA1C), totalni antioksidantni status (TAS), enzime antioksidativne zaštite (katalaza i glutation peroksidaza), urea, mokraćna kiselina, bilirubin, feritin, hormoni (kortizol, prolaktin, progesteron, testosteron, estradiol, androstendion, folikulostimulirajući hormon (FSH), lutenizirajući hormone (LH), globulini koji vezuju polne hormone (SHGB)), inhibin B, IL-6 i TNF- α .
- d) Procjena insulinske rezistencije
 U svijetu zlatni standard koji daje uvid u dinamiku djelovanja insulina i glukoze je

euglikemijska-hiperinsulinemijska clamp tehnika. Tehnika uključuje kontinuiranu infuziju insulina i glukoze kako bi se održala euglikemija (normalan nivo glukoze u krvi) i hiperinsulinsko stanje. Brzina infuzije glukoze potrebna za održavanje euglikemije smatra se mjerom insulinske osjetljivosti (28). U Crnoj Gori se navedena metoda ne radi te će se procjena insulinske rezistencije raditi određivanjem HOMA-IR indeksa insulinske rezistencije (Homeostasis Model Assessment Of Insulin Resistance), koji procjenjuje stanje funkcije postojećih beta ćelija i insulinske senzitivnosti kao procenat u odnosu na normalnu referentnu populaciju. Vrijednost indeksa se računa putem formule: $\text{glukoza natašte (mmol/L)} \times \text{bazalni insulin (mU/L)} / 22.5$, koji se preračunava nakon odradenog OGTT (oral glukosa tolerance testa) prema protokolu Dobre laboratorijske prakse. Opšte prihvaćena referentna vrijednost HOMA-IR indeksa za odrasle iznosi <1 , dok vrijednosti >3 ukazuje na prisustvo insulinske rezistencije.

- e) Određivanje polimorfizama zadatih gena: adiponektina (rs2241766) i FTO (rs9939609) radiće se na Real Time PCR.
- f) Obrada dobijenih podataka radiće se u SPSS programu.

Naučni doprinos

Praktičan značaj ovakvih istraživanja jeste bolje razumijevanje molekularnih osnova gojaznosti i razvoja insulinske rezistencije, otkrivanje novih strategija za terapiju gojaznosti i njenih komorbiditeta. Ovakav pristup je od javno zdravstvenog značaja za Crnu Goru, uvažavajući činjenice da broj gojaznih i onih sa Diabetes mellitusom u Crnoj Gori poprima razmjere epidemije u odnosu na broj stanovnika (negdje oko 10 % populacije Crne Gore a koja broji oko 600 000). Rezultati našeg istraživanja pored navedenog imaće značaj i za bolje razumijevanje genetskih i negenetskih modifikovanih riziko faktora, njihove fiziologije i funkcije u razvoju komorbiditeta u insulinskoj rezistenciji uzrokovanih gojaznošću. U ovom istraživanju moguća su ograničenja u dijelu da određeni broj ispitanica mogu biti na terapiji metforminom koji utiče na promjene u metaboličkim putevima i za taj dio rezultata vodiće se posebna pažnja u njihovoj analizi i interpretaciji. Sa druge strane broj ispitanica koje su uključene u istraživanje možda neće biti dovoljan da se izvedu statistički značajni zaključci u dijelu rezultata koji mogu ukazivati na iznalaženje novih prediktivnih dijagnostičkih markera, terapijskih i preventivnih protokola za šta će biti neophodna dalja klinička istraživanja.

Spisak objavljenih radova kandidata

Zorić B, Vojinović T. Farmakokinetički parametri od značaja zafarmakološki tretman kod gojaznosti pedijatrijske populacije. Rad prihvaćen za Treći kongres farmaceuta u Crnoj Gori sa međunarodnim učešćem, 2019. godine.

Popis literature

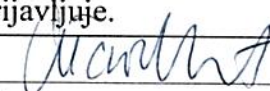

1. Wang Y, Zeng X, Tan J, Xu Y, Yi C. Diabetes mellitus and endometrial carcinoma: Risk factors and etiological links. *Medicine (Baltimore)*. 2022 Aug 26;101(34):e30299
2. <https://www.who.int/>
3. <https://www.cancer.org/>
4. Lee SH, Park SY, Choi CS. Insulin Resistance: From Mechanisms to Therapeutic Strategies. *Diabetes Metab J*. 2022 Jan;46(1):15-37
5. Zhong W, Wang X, Wang Y, Sun G, Zhang J, Li Z. Obesity and endocrine-related cancer: The important role of IGF-1. *Front Endocrinol (Lausanne)*. 2023 Jan 23;14:1093257

6. Li M, Chi X, Wang Y. et al. Trends in insulin resistance: insights into mechanisms and therapeutic strategy. *Sig Transduct Target Ther* 7, 216 (2022)
7. Xing C, Zhang J, Zhao H, He B. Effect of Sex Hormone-Binding Globulin on Polycystic Ovary Syndrome: Mechanisms, Manifestations, Genetics, and Treatment. *Int J Womens Health*. 2022 Feb 2;14:91-105
8. Maček P, Molinari N, Sobočan M, Knez J. What Role do Androgens Play in Endometrial Cancer? *Journal of Personalized Medicine*. 2023; 13(2):341
9. Besagil PS, Çalapkorur S, Şahin H. Determination of the relationship between total antioxidant capacity and dietary antioxidant intake in obese patients. *Niger J Clin Pract*. 2020 Apr;23(4):481-488
10. Kurajoh M, Fukumoto S, Yoshida S. et al. Uric acid shown to contribute to increased oxidative stress level independent of xanthine oxidoreductase activity in MedCity21 health examination registry. *Sci Rep* 11, 7378 (2021).
11. Mijailovic NR, Vesic K, Borovcanin MM (2022) The Influence of Serum Uric Acid on the Brain and Cognitive Dysfunction. *Front Psychiatry* 13:828476.
12. Gherghina M-E, Peride I, Tiglis M, Neagu TP, Niculae A, Checherita IA. Uric Acid and Oxidative Stress—Relationship with Cardiovascular, Metabolic, and Renal Impairment. *International Journal of Molecular Sciences*. 2022; 23(6):3188
13. Lin Y, Fan R, Hao Z, Li J, Yang X, Zhang Y, Xia Y. The Association Between Physical Activity and Insulin Level Under Different Levels of Lipid Indices and Serum Uric Acid. *Front Physiol*. 2022 Feb 2;13:809669
14. Prenesti E, Berto S, Gosmaro F, Bagnati M, Bellomo G. Dysmetabolisms Can Affect Total Antioxidant Capacity (TAC) of Human Plasma: Determination of Reference Intervals of TAC by Way of CUPRAC-BCS Method. *Antioxidants (Basel)*. 2021 Jan 5;10(1):58
15. Llorente-Cantarero FJ, Aguilar-Gómez FJ, Leis R, Bueno G, Rupérez AI, Anguita-Ruiz A, Vázquez-Cobela R, Mesa MD, Moreno LA, Gil Á, Aguilera CM, Gil-Campos M. Relationship between Physical Activity, Oxidative Stress, and Total Plasma Antioxidant Capacity in Spanish Children from the GENOBOX Study. *Antioxidants (Basel)*. 2021 Feb 20;10(2):320.
16. Kipp ZA, Xu M, Bates EA, Lee W-H, Kern PA, Hinds TD Jr. Bilirubin Levels Are Negatively Correlated with Adiposity in Obese Men and Women, and Its Catabolized Product, Urobilin, Is Positively Associated with Insulin Resistance. *Antioxidants*. 2023; 12(1):170
17. Žiberna L, Jenko-Pražnikar Z, Petelin A. Serum Bilirubin Levels in Overweight and Obese Individuals: The Importance of Anti-Inflammatory and Antioxidant Responses. *Antioxidants (Basel)*. 2021 Aug 26;10(9):1352
18. Creeden JF, Gordon DM, Stec DE, Hinds TD Jr. Bilirubin as a metabolic hormone: the physiological relevance of low levels. *Am J Physiol Endocrinol Metab*. 2021 Feb 1;320(2):E191-E207
19. Li H, Meng Y, He S, Tan X, Zhang Y, Zhang X, Wang L, Zheng W. Macrophages, Chronic Inflammation, and Insulin Resistance. *Cells*. 2022 Sep 26;11(19):3001
20. Al-Mansoori L, Al-Jaber H, Prince MS, Elrayess MA. Role of Inflammatory Cytokines, Growth Factors and Adipokines in Adipogenesis and Insulin Resistance. *Inflammation*. 2022 Feb;45(1):31-44.
21. Borowczak J, Szczerbowski K, Maniewski M, Kowalewski A, Janiczek-Polewska M, Szyłberg A, Marszałek A, Szyłberg Ł. The Role of Inflammatory Cytokines in the Pathogenesis of Colorectal Carcinoma—Recent Findings and Review. *Biomedicines*. 2022; 10(7):1670.

22. Wang X, Li J, Liu W, Zhang X, Xue L. The diagnostic value of interleukin 6 as a biomarker for gastric cancer: A meta-analysis and systematic review. *Medicine (Baltimore)*. 2021 Nov 24;100(47):e27945.
23. Kroll C, Farias DR, Carrilho TRB, Kac G, Mastroeni MF. Association of ADIPOQ-rs2241766 and FTO-rs9939609 genetic variants with body mass index trajectory in women of reproductive age over 6 years of follow-up: the PREDI study. *Eur J Clin Nutr*. 2022 Jan;76(1):159-172
24. Özgöz A, Mutlu İçduygu F, Yükseltürk A, Samli H, Hekimler Öztürk K, Baskan Z, Tütüncü I. Postmenopausal estrogen receptor positive breast cancer and obesity associated gene variants. *EXCLI J*. 2021 Jul 5;20:1133-1144.
25. Ağagündüz D, Gezmen-Karadağ M. Association of FTO common variant (rs9939609) with body fat in Turkish individuals. *Lipids Health Dis*. 2019 Dec 6;18(1):212.
26. Mehrdad M, Doaei S, Gholamalizadeh M, Fardaei M, Fararouei M, Eftekhari MH. Association of FTO rs9939609 polymorphism with serum leptin, insulin, adiponectin, and lipid profile in overweight adults. *Adipocyte*. 2020 Dec;9(1):51-56.
27. <https://www.health.harvard.edu/staying-healthy/taking-aim-at-belly-fat>
28. Dagogo S. Euglycemic hyperinsulinemic clamp: A gold standard technique for assessing insulin sensitivity. *J Diabetol*. 2023; 7(4):159

SAGLASNOST PREDLOŽENOG/IH MENTORA I DOKTORANDA SA PRIJAVOM

Odgovorno potvrđujem da sam saglasna sa temom koja se prijavljuje.

Prvi mentor	Prof dr. Snežana Pantović	
Drugi mentor	/	/
Doktorand	dr pharm Bojana Zorić	

IZJAVA

Odgovorno izjavljujem da doktorsku disertaciju sa istom temom nisam prijavila ni na jednom drugom fakultetu.

 U Podgorici,
 4. 7. 2023. godine

 Ime i prezime doktoranda
