Sadržaj lipida u posteljicama trudnica s tipom 1 šećerne bolesti

Starčević, Vito

Doctoral thesis / Disertacija

2008

Degree Grantor / Ustanova koja je dodijelila akademski / stručni stupanj: **University of Zagreb, School of Medicine / Sveučilište u Zagrebu, Medicinski fakultet**

Permanent link / Trajna poveznica: https://urn.nsk.hr/urn:nbn:hr:105:410737

Rights / Prava: In copyright / Zaštićeno autorskim pravom.

Download date / Datum preuzimanja: **2024-03-28**



Repository / Repozitorij:

Dr Med - University of Zagreb School of Medicine Digital Repository





Središnja medicinska knjižnica

Starčević, Vito (2008) ***Sadržaj lipida u posteljicama trudnica s tipom 1 šećerne bolesti [The content of lipids in the placenta of the pregnant women with type 1 of the diabetes mellitus].*** **Doktorska disertacija, Sveučilište u Zagrebu.**

http://medlib.mef.hr/564

University of Zagreb Medical School Repository
http://medlib.mef.hr/

SVEUČILIŠTE U ZAGREBU
MEDICINSKI FAKULTET

Vito Starčević

Sadržaj lipida u posteljicama trudnica s tipom 1 šećerne bolesti

DISERTACIJA

Zagreb, 2008.

SVEUČILIŠTE U ZAGREBU
MEDICINSKI FAKULTET

Vito Starčević

Sadržaj lipida u posteljicama trudnica s tipom 1 šećerne bolesti

DISERTACIJA

Zagreb, 2008.

Ova disertacija je izrađena pod mentorstvom prof.dr.sc. Josipa Đelmiša, dijelom u Referentnom centru za dijabetes u trudnoći Ministarstva zdravstva i socijalne skrbi RH, Klinike za ženske bolesti i porode KBC-a Zagreb, a biokemijska obrada uzoraka pod stručnim nadzorom doc.dr.sc. Ivančice Delaš u Zavodu za kemiju i biokemiju Medicinskog fakulteta Sveučilišta u Zagrebu.

Zahvale:

Prof.dr.sc. Josipu Đelmišu uz najdublje poštovanje iskreno se zahvaljujem na brižnom mentorstvu, razumijevanju, odabiru teme i pomoći tijekom izrade ovog rada.

Suradnicima RCZDT-a i svim prijateljima iz Klinike za ženske bolesti i porode, koji su mi pomogli na bilo koji način, iskreno se zahvaljujem.

Zahvaljujem se svim djelatnicima Zavoda za kemiju i biokemiju Medicinskog fakulteta u Zagrebu i Doc.dr.sc. Ivančici Delaš za stručno mentorstvo, savjete, poticaje, te nesebičan trud i pomoć pri biokemijskoj obradi uzoraka.

Posebno se zahvaljujem gospođi Jeleni Petrović i njenim suradnicima za svekoliku pomoć pri obradi uzoraka za ovaj rad.

Svojoj obitelji zahvaljujem za stalni poticaj, strpljenje i podršku koju su mi pružali tijekom izrade ove disertacije.

Svojoj djeci Viti, Aniti i Karlu, te svojim roditeljima što su me potaknuli da razvijam u sebi samo najbolje i najsjajnije stvari u životu.

Zahvaljujem i svim suradnicima iz drugih institucija, koji su mi na bilo koji način pomagali.

Budite brzi i slobodni u davanju pohvala, a spori i suzdržani u kritiziranju.

Sadržaj:

1.	**UVOD**	1
1.1.	METABOLIZAM U TRUDNICA S TIPOM 1 ŠEĆERNE BOLESTI	2
1.2.	RAST FETUSA U DIJABETIČKOJ TRUDNOĆI	4
1.3.	PLACENTA / EMBRIOLOŠKI RAZVOJ I GRAĐA POSTELJICE	6
1.4.	FUNKCIJA POSTELJICE	9
1.5.	PLACENTA DIJABETIČKIH TRUDNICA	10
1.5.1.	Transport i metabolizam posteljice	14
1.5.1.1.	*Kisik i željezo*.	14
1.5.1.2.	*Ugljikohidrati, glukoza*	15
1.5.1.3.	*Lipidi, steroidi*	16
1.5.1.4.	*Aminokiseline, polipeptidi, proteini*	18
1.5.1.5.	*Nukleotidi*	20
1.5.2.	Oksidativni stres u placenti dijabetičkih trudnica	20
1.5.3.	Antioksidacijski kapacitet	21
1.5.4.	Dušični oksid i superoksid u placenti	22
1.5.5.	Protok krvi kroz placentu dijabetičkih trudnica	22
1.6.	PLACENTA I DIJABETES	23
1.7.	TRANSPORT LIPIDA KROZ POSTELJICU	27
1.8.	TRANSPORT MASNIH KISELINA KROZ POSTELJICU	29
1.9.	KARBOKSILNE KISELINE	31
1.9.1	Omega-3 i omega-6 masne kiseline	34
1.9.2.	Lipidi stanične membrane	34
1.9.3.	Eikosanoidi	36
1.10.	METABOLIZAM LIPIDA / MASNE KISELINE	37
1.10.1.	Kratkotrajno noćno gladovanje	39
1.10.2.	Tjelesna aktivnost	41
1.10.3.	Ingestija glukoze	41
1.10.4.	Ingestija bjelančevina	42
1.10.5.	Ingestija masnoća	43
1.10.6.	Utjecaj spola na homeostazu glikemije	43
1.11.	METABOLIČKE PROMJENE U ZDRAVIH I DIJABETIČKIH TRUDNICA	44
1.11.1.	Manjak inzulina u dijabetes melitusu	47
1.11.2.	Izlučivanje inzulina	47
1.12.	POSTAPSORPCIJSKO STANJE	48
2.	**CILJ, HIPOTEZA I SVRHA RADA**	**50**
2.1.	DOSADAŠNJE SPOZNAJE	50
2.2.	CILJ RADA, HIPOTEZA I SVRHA RADA	53

3.	**MATERIJALI I METODE ISTRAŽIVANJA**	**55**
3.1.	PRIKUPLJANJE UZORAKA	55
3.2.	UZORCI	57
3.3.	METODE ISTRAŽIVANJA	57
3.3.1.	Homogenizacija i liofilizacija uzoraka	57
3.3.2.	Tankoslojna kromatografija **TLC** – *Thin Layer Chromatography* i plinska kromatografija **GC** - *Gas Chromatography*	59
3.3.3.	Transesterifikacija / Metanoliza	62
3.4.	KEMIKALIJE	64
3.5.	STATISTIČKA ANALIZA	65
4.	**REZULTATI**	**66**
4.1.	TABLICE	66
4.2.	GRAFIČKI PRIKAZ REZULTATA	91
5.	**RASPRAVA**	**116**
6.	**ZAKLJUČAK**	**144**
7.	**SAŽETAK**	**149**
8.	**SUMMARY**	**154**
9.	**Popis literature**	**159**
10.	**Popis slika**	**188**
11.	**ŽIVOTOPIS**	**189**
11.1.	Radovi u međunarodno priznatoj literaturi	190
11.2.	Poglavlja u knjigama	191
11.3.	Sudjelovanje na kongresima (radovi), stručnim sastancima, simpozijima, tečajevima; sažeci u zbornicima radova i neobjavljeni radovi	192

Popis korištenih kratica:

AA	arahidonska kiselina, C 20:4 n-6 (engl. *Arachidonic acid*)
Acetil-Co-A	acetil koenzim A
Acil-Co-A	acil koenzim A
ACTH	adrenokortikotropni hormon
ADP	adenozin difosfat
ALA	α - linolenska kiselina, C 18:3 n-3 (engl. *α-linolenic acid, ALA*)
ATP	adenozin trifosfat
BCAA	aminokiseline razgranatog lanca (engl. *Branched chain amino acids*)
BMI	indeks tjelesne mase (engl. *body mass index*)
CH	kolesterol (engl. *Cholesterol*)
CE/EC	kolesterol-ester/esterificirani kolesterol (engl. *Cholesterolester/. esterified cholesterol*)
CE-LC-PUFA	kolesterol-esteri dugolančane višestruko nezasićene masne kiseline (engl. *Cholesterolesters long chain polyunsaturated fatty acids*)
C-FABP	kardijalni transportni protein masnih kiselina
DHA	dokozaheksaenska kiselina, C 22:6 n-3 (engl. *Docosahexaenoic acid*)
DHGLA	dihomo-γ linolenska kiselina, C 20:3 n-6
DKA	diabetična ketoacidoza (engl. *Diabetic ketoacidosis*)
DNA	deoksiribonukleinska kiselina (engl. *Deoxyribonucleic acid* ***DNA***)
EFA	esencijalne masne kiseline (engl. *Essential fatty acids*)
EPA	eikozapentaenska kiselina, C 20:5 n-3 (engl. *Eicosapentaenoic acid*)
FA	masna kiselina (engl. *Fatty acid*)
FABP	protein za vezanje masnih kiselina (engl. *Fatty acid binding protein*)
$FABP_{pm}$	membranski protein za vezanje masnih kiselina (engl. *Plasma membrane fatty acid binding protein*)
FAME	metilni esteri masnih kiselina (engl. *Fatty acid methyl ester*)
FAT	translokaza masnih kiselina (engl. *Fatty acid translocase*)
FATP	protein za prijenos masnih kiselina (engl. *Fatty acid transporter protein*)
FFA	slobodne masne kiseline (engl. *Free fatty acids*)
FID	plameno-ionizacijski detektor (engl. *Flame ionisation detector*)
GC	plinska kromatografija (engl. *Gas chromatography*)
GLA	γ-linolenska kiselina, C 18:3 n-6
GLUT	glukoza-transportni protein (engl. *Glucose transporter*)
GTT	test tolerancije glukoze
HbA_1c	glikozilirani (glikirani) hemoglobin A_1c
HCG	humani korionski gonadotropin
HDL	lipoprotein velike gustoće (engl. *High density lipoprotein*)
HHS	stanje hiperosmolarne hiperglikemije (engl. *Hyperosmolar hyperglycemic state*)
HLA antigen	humani leukocitni antigen (engl. *human leukocyte antigen* ***HLA***)
HPL	humani placentarni laktogen

HPLC	tekućinska kromatografija visoke djelotvornosti (engl. *High performance liquid chromatography*)
IgA	imunoglobulin A
IgG	imunoglobulin G
IgM	imunoglobulin M
IL	Illinois
IQ	kvocjent inteligencije (engl. *intelligence quotient*)
IUGR	intrauterini zastoj u rastu (engl. *intrauterine growth retardation*)
LA	linolna kiselina, C 18:2 n-6 (engl. *Linoleic acid*)
LCAT	lecitin-kolesterol aciltransferaza (engl. *Lechitin-cholesterol acyltransferase*)
LC-PUFA	dugolančane višestruko nezasićene masne kiseline (engl. *Long chain polyunsaturated fatty acids*)
LDL	lipoprotein niske gustoće (engl. *Low density lipoprotein*)
L-FABP	jetreni transportni protein masnih kiselina
LGA	za dob velike djece (engl. *Large for gestational age*)
LPL	lipoproteinska lipaza
m-RNA	glasnička ribonukleinska kiselina (engl. *messenger-RNA*)
NADPH	nikotinamid-adenin-dinukleotid-fosfat (engl. *Nicotinamide adenine dinucleotide phosphate*)
NEFA	neesterificirane masne kiseline (engl. *Nonesterified fatty acids*)
NO-sintetaza	dušikov-oksid-sintetaza
NOX	nikotinamid adenin dinukleotid fosfat-oksidaza (engl. *Nicotinamide adenine dinucleotide phosphate-oxidase*)
oGTT	oralni test tolerancije glukoze
$ONOO^-$	peroksinitrat-anion
PC	fosfatidilkolin
PE	fosfatidiletanolamin
$pFABP_{pm}$	posebna izoforma membranskog transportnog proteinskog nosača masnih kiselina
PGE2	prostaglandin E2
PGF2α	prostaglandin F2-alfa
PHOX	fagocitna oksidaza (engl. *Phagocytic oxidase*)
PHE	postheparin-esteraza
PI	fosfatidilinozitol
PL	fosfolipid
PS	fosfatidilserin
PUFA	višestruko nezasićene masne kiseline (engl. *polyunsaturated fatty acid*)
R-COOH	opća formula karboksilnih kiselina
RCZDT	Referentni centar za dijabetes u trudnoći
RDS	respiratorni distresni sindrom (engl. *Respiratory distress syndrome*)
SMK	slobodne masne kiseline (engl. *Free fatty acids* ***FFA***)
TAG/TG	triacilglicerol/triglicerid (stariji naziv triglicerid **TG**)
TLC	tankoslojna kromatografija (engl. *Thin Layer Chromatography*)
TSH	tireotropin

TXBA2	tromboksan A2
TXBB2	tromboksan B2
U.S.	Sjedinjene Američke Države (engl. *United States*)
VLDL	lipoprotein vrlo niske gustoće (engl. *Very low density lipoprotein*
WHO	World Health Organisation

1. UVOD

Dijabetes melitus je od uvijek bio aktivno područje znanstvenog istraživanja, za brojne specijaliste i istraživače. Široko područje znanstvenog rada obuhvaća još uvijek nedovoljno istraženo područje svih patogenetskih mehanizama ove bolesti. Široka rasprostranjenost ove bolesti i sve veća učestalost s potencijalno mogućim brojnim komplikacijama tijekom trudnoće zahtjeva interdisciplinarni pristup s više različitih specijalnosti; od dijagnostičko laboratorijske obrade, kliničkog nadzora, do same terapije osnovne bolesti. Progresivan istraživački razvoj bazične znanosti posljednjih godina u području genetike i molekularne biologije donosi nove spoznaje o šećernoj bolesti. Metaboličke promjene i oscilacije glikemije u trudnica s tipom 1 šećerne bolesti vrlo su složene zbog znakovitih promjena hormonske ravnoteže i nastanka novog glukoznog, feto-placentarnog „shunta“ glukoze (1).

Metabolizam ugljikohidrata vrlo je složen i još uvijek nedovoljno istražen. Glukoza prolazi kroz posteljicu mehanizmom olakšane difuzije. Čini se sigurnim, da tijekom trudnoće postoji promijenjen odgovor organizma na opterećenje glukozom, naročito u kasnoj trudnoći. Početkom trudnoće inzulin uobičajeno smanjuje koncentraciju glukoze u krvi, a tijekom uznapredovale trudnoće stvorena povećana količina inzulina ima ograničen učinak na koncentraciju glukoze u krvi, zbog razvoja inzulinske rezistencije, koja je sve izraženija, usporedno s rastom feto-placentne jedinice i razine hormona posteljice (humanog placentarnog laktogena, progesterona, kortizola i dr. hormona) (2). Navedeni hormoni posteljice usporavaju inzulinsko djelovanje, što je zapaženo čak i izvan trudnoće (2). S postupnim razvojem trudnoće u trudnica s tipom 1 šećerne bolesti raste i učestalost mogućih pogoršanja osnovne bolesti s posljedičnim otklonima u metabolizmu ugljikohidrata, aminokiselina i lipida. Nakon jela zbog antilipolitičkog djelovanja inzulina ne oslobađaju se masne kiseline iz masnog tkiva, ali su razine slobodnih masnih kiselina više, nego izvan trudnoće. Stimulacija lipolize nastaje nakon 3 do 4 sata od uzimanja hrane, zbog pada razine inzulina, pa dolazi do znakovitog porasta razine slobodnih masnih kiselina u krvi majke. Porast triacilglicerola/triglicerida iznosi 1,5 do 2 puta tijekom trećeg tromjesečja u odnosu na vrijednosti triacilglicerola/triglicerida prije trudnoće (3). Takav znakoviti porast

triacilglicerola/triglicerida nastaje zbog povećanog stvaranja triacilglicerola/triglicerida u jetrenom parenhimu majke, povećanog i sve većeg unosa hrane u trudnoći i smanjene aktivnosti lipoproteinske lipaze (LPL) (3). Nasuprot porastu koncentracije glukoze i slobodnih masnih kiselina većina aminokiselina se tijekom trudnoće smanjuje, kako nakon obroka, tako i na tašte, a što je posljedica hiperinzulinemije u majke (4,5,6). Način na koji djeluje poremećaj metabolizma ugljikohidrata u takvih trudnica je većim dijelom dobro istražen, međutim kako se on odražava na intermedijarni metabolizam, te na metabolizam lipida u takvih trudnica još uvijek ostaje nepoznat.

1.1. METABOLIZAM U TRUDNICA S TIPOM 1 ŠEĆERNE BOLESTI

U trudnoći je poznata lokalna inhibicija inzulinskog djelovanja na razini stanice, zbog djelovanja antagonista inzulina. Adaptacija na inzulinsku rezistenciju, može se objasniti potrebom fetusa za glukozom (7,8). Naime nakon jela u zdravih trudnica, zbog djelovanja inzulinske rezistencije dolazi do porasta razine glukoze u krvi majke, što omogućuje veći prijelaz glukoze od majke fetusu. Zbog relativnog ili apsolutnog manjka inzulina u dijabetičkim trudnoćama dolazi do metaboličkih poremećaja u fetoplacentnoj jedinici. Koncentracije glukoze, masnih kiselina, ketona, triacilglicerola/triglicerida, kao i nekih aminokiselina u cirkulaciji trudnice se povisuju. Takve promjene mogu dovesti do poremećaja rasta i razvoja embrija, a kasnije fetusa. Primjerena odnosno dobra regulacija glikemije u trudnica s tipom 1 šećerne bolesti može djelovati preventivno, te smanjiti učestalost komplikacija, koje prate takvo stanje (7,8). Trudnice s tipom 1 šećerne bolesti nemaju endogenog inzulina, zbog čega im treba davati inzulin radi regulacije glikemije i sprječavanja ketoacidoze (9). Izvan trudnoće u takvih žena postoji normalna osjetljivost na inzulin, dok se u trudnoći zbog postupnog razvoja inzulinske rezistencije mora postupno povećavati doza inzulina, te na taj način pokriti povećane potrebe za inzulinom. Dobrom regulacijom glikemije intenziviranom inzulinskom terapijom smanjit će se razina ketonskih tijela, razina slobodnih masnih kiselina, triacilglicerola i aminokiselina. Ako se u trudnica s tipom 1 šećerne bolesti stimulira katabolizam masti doći će do brzog nastanka ketoacidoze. Međutim stanje ketoacidoze može se javiti i u stanjima loše reguliranog oblika šećerne

bolesti. U takvim stanjima potrebna je infuzija tekućine s intravenskim davanjem inzulina i korekcijom elektrolitskog disbalansa, jer je u takvim okolnostima visok perinatalni mortalitet (10). Istovremeno treba naglasiti, da program intenzivirane/agresivne regulacije glikemije u trudnica s tipom 1 šećerne bolesti, može često rezultirati nastankom hipoglikemije, zbog čega je nužna edukacija trudnica. Takve trudnice nemaju dovoljne količine inzulina za primjeren metabolizam fetusa i posteljice. U takvim okolnostima može doći do oštećenja rasta embrija kasnije fetusa, ali i do pogoršanja sekundarnih komplikacija osnovne bolesti. Metaboličke potrebe fetusa određuju majčin metabolizam u trudnoći. Nakon jela dolazi do pohranjivanja energije, a za vrijeme gladovanja dolazi do brzog oslobađanja energije minimalnom razgradnjom proteina. Metaboličke promjene nastaju zbog djelovanja hormona posteljice (11). Najvažnije metaboličke promjene u trudnoći su nastanak progresivne inzulinske rezistencije, ubrzan katabolizam masti i hipoglikemije za vrijeme gladovanja. Tijekom ranog fetalnog razvoja genom fetusa određuje brzinu fetalnog rasta, dok je u fazi uznapredovale trudnoće uključeno više čimbenika, kao što su čimbenici okoliša, hormoni i nutritivni čimbenici.

U trudnica s tipom 1 šećerne bolesti utjecaj ovisi i o stanju glikemije majke, metaboličkim oscilacijama i specifičnostima transporta kroz posteljicu. Transfer glukoze kroz posteljicu odvija se uz pomoć prijenosnika s konstantom K(M) oko 70 mg/dL, koja je limitirana primarno određenim značajkama prijenosnika i stope iskorištenja glukoze u posteljici (12,13,14,15). Danas su istraživanja usmjerena prema transporterima glukoze i intracelularnim mehanizmima, koji reguliraju dotok glukoze fetusu u normoglikemijskim i hiperglikemijskim stanjima in vitro i in vivo u dijabetičkih trudnica (12). Transplacentarni transport glukoze je proces temeljen na olakšanoj difuziji, kod koje posreduje izoforma prijenosnika glukoze GLUT 1 (15). I kod dobro kontroliranih odnosno reguliranih dijabetičarki javljaju se prolazna razdoblja hiperglikemije. U kulturi stanica ljudske posteljice trudnica s tipom 1 šećerne bolesti hiperglikemija inducira redukciju razine GLUT 1 ribonukleinske kiseline, tj. dolazi do smanjene regulacije i nadzora nad ekspresijom i aktivnošću prijenosnika glukoze (GLUT 1). In vitro istraživanja su pokazala, da u stanjima dugotrajne hiperglikemije dolazi do smanjenja GLUT 1 prijenosnika glukoze u terminskom trofoblastu i da

istovremeno dolazi do translokacije GLUT 1 s površine stanica trofoblasta na njegovu intracelularnu stranu (16). Takav bi mehanizam in vivo trebao u trudnica s krajnje nereguliranim tipom 1 šećerne bolesti trebao smanjiti transport glukoze od majke djetetu (17). Spomenuti autoregulacijski mehanizam stanica trofoblasta trebao bi biti izložen djelovanju dugotrajne hiperglikemije, što se danas in vivo u dijabetičkih trudnica gotovo ne može susresti. U visoko diferentnim centrima, kao što je Referentni centar za dijabetes u trudnoći (RCZDT) u Klinici za ženske bolesti i porode, KBC-Zagreb dijabetičke trudnice imaju dobro regulirane oblike šećerne bolesti s minimalnim brojem sekundarnih komplikacija osnovne bolesti. Tako je npr. učestalost kongenitalnih malformacija, koje su direktno povezane s štetnim djelovanjem hiperglikemije, svedena na manju učestalost malformacija nego u zdravih trudnica. Rezultati RCZDT-a su na zavidnoj svjetskoj razini, te se učestalost malformacija kreće između 1-2%. Međutim i u dobro reguliranih dijabetičarki ipak se događa nešto, što je u suprotnosti s do sada navedenim i iziskuje daljnja istraživanja, a to je: da je transport glukoze kroz terminsku posteljicu dobro reguliranih dijabetičkih trudnica i zdravih trudnica ograničen, a unatoč tome dolazi do razvoja makrosomije u 20-30% trudnica kompliciranih s tipom 1 šećerne bolesti, te se na taj način može povisiti perinatalni mortalitet (14). I u određenom postotku dijabetičkih trudnica s tipom 1 šećerne bolesti koje imaju prekoncepcijski uredne vrijednosti glikoziliranog hemoglobina A1c zapaža se ubrzani rast fetusa i placente. U slučajevima kad su vrijednosti glikoziliranog hemoglobina A1c suboptimalne, u razdoblju između 8. i 10. tjedna trudnoće dolazi do porasta broja GLUT 1 prijenosnika u vezikulama bazalne membrane, te se na njihov broj tijekom cijele trudnoće ne može djelovati bez obzira na normoglikemiju majke (18,19).

1.2. RAST FETUSA U DIJABETIČKOJ TRUDNOĆI

Pojam makrosomije upućuje na povećanu tjelesnu masu. Etiologija fetalne makrosomije je multifaktorijelna i više od 60% makrosomne novorođenčadi rađa se u trudnoćama, koje nemaju jasnih rizičnih čimbenika za fetalnu makrosomiju, odnosno metabolička kontrola trudnica je neadekvatna (20,21,22,23,24,25,26). U trudnica s

tipom 1 šećerne bolesti hiperglikemija potiče fetalni pankreas na prijevremeno sazrijevanje uz posljedičnu hiperplaziju β-stanica pankreasa i fetalnu hiperinzulinemiju, koja posljedično dovodi do povećanja tjelesne mase i visceromegalije novorođenčeta. Kronična hiperinzulinemija u fetusa iz dijabetičkih trudnoća (27) uzrokuje povećanje ukupne mase i organomegaliju tkiva osjetljivog na inzulin (28,29). Novorođenčad je disproporcionalna tj. ima velik trup u odnosu na mjere glavice. Makrosomno novorođenče trudnice s tipom 1 šećerne bolesti ima šira ramena i veći promjer ekstremiteta, smanjen omjer opsega glavice i širine ramena, veće vrijednosti kožnog nabora i veću proporciju masti u ukupnoj težini (28,29,30). Organomegalija jetre (do 180%) bazira se najvećim dijelom na hiperplaziji, a ne hipertrofiji (31). Stanice jetre imaju sposobnost povišene aktivnosti sinteze masnih kiselina i triacilglicerola/triglicerida, a to povećanje aktivnosti zaslužno je za 50-60% deponiranih masti u organizmu. U slučajevima hiperinzulinemije, ali bez adekvatnog transporta prehrambenih tvari tkivo će stvarati sliku stanične proliferacije (32). Za razvoj čovjeka od oplođenog jajašca potrebna su 44 stanična ciklusa (33). Tijekom embrionalnog razvoja stanice se umnažaju velikom brzinom, pa embrionalna masa ima visoku stopu porasta, a 95% porodne težine biva prikupljeno tijekom druge polovice trudnoće. Posteljica ima jednaku stopu rasta do 20. tjedna gestacije, a njezin daljnji rast je daleko sporiji u odnosu na rast fetusa. Razdoblje organogeneze karakterizira rast fetusa pod kontrolom genoma, ali i pod utjecajem vanjskih čimbenika (34). Za dijabetes je znakovita posteljica promijenjene strukture: hipo i hiperamifikacija terminalnih vilusa, što može dovesti do povišenog otpora u fetoplacentnom protoku (34). Zbog majčine vaskulopatije može doći do poremećaja u uteroplacentnom protoku. U stanjima hiper ili hipoglikemije dolazi do redukcije fetoplacentnog protoka, koji je posljedica dugotrajne loše metaboličke kontrole uz posljedične promjene u strukturi posteljice. Posteljični čimbenici uključujući i njenu veličinu i povećanu viloznu mrežu povezani su s ubrzanim fetalnim rastom.

1.3. PLACENTA / EMBRIOLOŠKI RAZVOJ I GRAĐA POSTELJICE

Posteljica ili placenta je jedini privremeni organ, koji se razvija tijekom cijele trudnoće i traje do samog kraja trudnoće. Jedini je organ ljudskog tijela, koji sjedinjuje tkiva dvije različite osobe. Razvoj posteljice počinje oplodnjom jajne stanice, a funkcija joj prestaje podvezivanjem ili presjecanjem pupčane vrpce, nakon rođenja ploda. U vrijeme razvoja blastociste (oko 6. dana nakon oplodnje) započinje nasađivanje na površinu endometrija koje završava oko 10. dana (35,36). Potom slijedi diferencijacija stanica blastociste u stanice trofoblasta i stanice koje čine embrionalni čvorić (35). Stanice trofoblasta su smještene uz površinu, a 8. dana embrionalnog razvoja vanjski sloj tih stanica čini jedinstvenu staničnu masu ili sinciciotrofoblast. Usporedno s implantacijom i diferencijacijom zametnih listića teče i razvoj primitivnog tkiva posteljice, što se očituje razdvajanjem sinciciotrofoblasta od citotrofoblasta. Treći tip stanica trofoblasta je tzv. intermedijarni trofoblast (37). Oko 12. dana citotrofoblast okružuje primitivni mezoblast, koji gotovo u cijelosti ispunjava blastocističnu šupljinu. Započinje proliferacija trofoblasta i stvaranje oblika, koji su preteča primitivnih resica (38,13). U prvim tjednima razvoja resice pokrivaju cijelu površinu koriona. U primitivnim resicama krajem četvrtog tjedna gestacije i to najprije na implantacijskom polu nastaje vaskularizacija s krvnim žilama malog promjera smještene pretežno u središnjim dijelovima resica. Napredovanjem trudnoće resice na embrionalnom polu i dalje rastu i granaju se čineći tako resičasti korion (chorion frondosum). Na suprotnom polu resice nestaju pa je u 3. mjesecu ta strana koriona glatka i naziva se glatki korion (chorion laeve). Razlika između resičastog i glatkog koriona odražava se i u građi decidue, funkcionalnog sloja endometrija, koji se za vrijeme porođaja odljušti. S površine trofoblasta strše brojne sekundarne i tercijarne resice, koje mu daju karakterističan čupav izgled. Slijedeća dva tjedna dolazi do postupne redukcije citotrofoblasta, te se stvaraju prve Hofbauerove stanice, koje imaju funkciju makrofaga (39). Treći mjesec gestacije karakteriziran je s postupnim završetkom vaskularizacije svih resica, te se povećava broj Hofbauerovih stanica. Resice su još uvijek većim dijelom prekrivene s oba sloja trofoblasta i započinje postupno odlaganje fibrina. Slijedi razdoblje oblikovanja korionske ploče s fibrozom strome resica, a kapilare

ponegdje dosežu stanice trofoblasta. Resice polaze od korionske ploče, a na suprotnoj strani su pričvršćene za majčinu deciduu s pomoću vanjske ljuske citotrofoblasta. Površinu resica oblaže sinciciotrofoblast koji leži na sloju stanica citotrofoblasta, a one pokrivaju središnji prokrvljeni mezoderm. Kapilarna mreža u mezodermu resica ubrzo se spaja s kapilarama korionske ploče i embrionalnog drška, te tako nastaje izvanembrionalni krvožilni sustav. Sljedećih mjeseci brojni mali izdanci pupaju iz postojećih resica u okolne lakunarne ili intervilozne prostore. Sinciciotrofoblast i endotel krvnih žila su tada jedini slojevi koji odvajaju majčin krvotok od fetalnog. Stanjuje se sinciciotrofoblast, a neki njegovi cijeli dijelovi s nekoliko jezgara mogu se ispupčiti i odvojiti u krv u interviloznim prostorima. To su tzv. sincicijski čvorići koji uđu u majčin krvotok i obično propadnu bez ikakvih simptoma. Sedmi mjesec razvoja karakterizira sinusoidalno širenje kapilara, a započeta je i fibrozacija srednje velikih resica. Kroz osmi mjesec stroma resica se dalje vezivno mijenja, te u devetom mjesecu dolazi do maksimalnog sinusoidalnog širenja krvnih kapilara, citotrofoblast nalazimo samo na 25% površine resica. Krajem trudnoće dolazi do daljnjeg odlaganja fibrina i napredovanja fibrozacije strome resica. Nakon poroda dolazi do ljuštenja funkcionalnog sloja endometrija (decidua). Decidua uz resičasti korion (decidua basalis) sastoji se od kompaktnog sloja velikih stanica (decidcua stanice) koje sadržavaju mnogo lipida i glikogena. Taj se sloj naziva *bazalna ploča* i čvrsto je srastao s korionom. Osim stanica decidue koje imaju akumulacijsku sposobnost za lipide i glikogen, određena količina lipida i glikogena može se pojačano odlagati u posteljično tkivo, kod nereguliranih glikemija trudnica s tipom 1 šećerne bolesti. Upravo u izmjeni tvari između majke i fetusa najviše sudjeluje resičasti korion, koji s deciduom basalis čini posteljicu/placentu. Decidua koja obavija glatki korion naziva se decidua capsularis. Povećanjem korionske šupljine taj se sloj rasteže i degenerira. Kasnije glatki korion dosegne zid maternice na suprotnoj strani (decidua parietalis) i sraste s njim. Šupljina maternice tada nestane. Slično tome spajanjem amniona i koriona nastaje amniokorionska ovojnica (vodenjak) unutar koje se nalazi plodova voda, a korionska šupljina nestane. Već oko 4. mjeseca trudnoće posteljica se sastoji iz dva dijela: a) fetalni dio, koji čini resičasti korion i b) majčin dio, koji čini decidua basalis. Na fetalnoj strani zid posteljice čini korionska ploča, a na majčinoj strani

decidua basalis (bazalna ploča), koja je čvrsto ugrađena u posteljicu. U zoni dodira stanice trofoblasta prodiru između stanica decidue. Između korionske i decidualne ploče, te među korionskim resicama nalaze se intervilozni prostori ispunjeni majčinom krvlju. Ovi prostori potječu od lakuna u sinciciotrofoblastu i obloženi su sinciciotrofoblastom na površini resica. Resice urastaju u intervilozne prostore i granaju se u njima. Decidua stvara decidualne pregrade, koje strše u intervilozne prostore, ali ne dopiru do korionske ploče, kojima stvaraju brojne kotiledone. Napredovanjem trudnoće dolazi do povećanja posteljice. Površina posteljice raste usporedno sa širenjem maternice. Krajem trudnoće posteljica je teška oko 500-600 g, ovalnog je ili okruglog oblika, te ima debljinu oko 3 cm. Međutim posteljica trudnica koje boluju od šećerne bolesti i ukoliko se radi o loše reguliranim oblicima šećerne bolesti može imati karakterističan izgled i histološke osobine. Posteljica je uvećana, deblje stijenke, pletoričnog izgleda, koji nastaje zbog veće izloženosti različitim utjecajima od majčine hiperglikemije, povećanog transporta lipida, aminokiselina i fetalne hipervolemije (36). U slučajvima blažeg poremećaja glikemije u trudnoći utvrđeno je da su ovakve promjene manje zastupljene, dok se u slučajevima dobro regulirane glikemije težina posteljice ne razlikuje od normalne (40,41). U tih su posteljica resice često edematozne i nalik posteljicama iz trudnoća s fetalnom eritroblastozom, te prokrvljenost resica može biti vrlo različito izražena. Resice mogu pokazivati promjene od normalne vaskularizacije, hipovaskularnih promjena, do izraženih umnoženih krvnih žila resica s karakterističnim izgledom disocijacije zrenja. Obložni citotrofoblast često je upadljiv, a bazalna membrana pokazuje žarišno ili difuzno zadebljanje, što ukazuje na oštećenje trofoblasta. Uz normalan uteroplacentarni protok krvi oštećenje je vjerojatno povezano s metabolički nenormalnim okruženjem u kojem se nalaze resice dijabetičkih posteljica. Poznato je da posteljično tkivo stvara radikale kisika, koji stimuliraju fibroblaste na stvaranje obilnije međustanične tvari, gdje može doći do razvoja postplacentne hipoksije (42). U posteljicama dijabetičkih trudnica, češće nalazimo tromboze fetalnih arterija na površini korionske ploče. Histološki unutar krvne žile nalazimo organizirani tromb ili tromb u organizaciji, dok su predležeće resice avaskularne zbog obliteracije lumena i fibrozacije strome.

1.4. FUNKCIJA POSTELJICE

Posteljica tijekom svog postojanja ima višestruku ulogu. Glavne funkcije su: **a)** izmjena plinova i proizvoda metabolizma tj. nutritivno respiracijska uloga između majčinog i fetalnog krvotoka (43). Omogućuje izmjenu svih potrebnih hranidbenih sastojaka (hranjive tvari, voda, sol, elektroliti, vitamini i drugi sastojci.) i kisika. Izmjena hranjivih tvari i elektrolita, kao što su aminokiseline, slobodne masne kiseline, ugljikohidrati i vitamini brza je i raste s napredovanjem trudnoće (43). Neposredno prije rođenja fetus prima iz majčinog krvotoka oko 20-30 mL kisika u minuti, pa je razumljivo, da i kratkotrajan prekid opskrbe kisikom, može biti koban za fetus. Izmjena plinova kao što su kisik, ugljični dioksid i ugljični monoksid odvija se difuzijom. Opskrba kisikom ovisi o protoku krvi kroz posteljicu, jer količina kisika koja dolazi u fetus ovisi najviše o dotoku, a ne o difuziji; **b)** ekskrecijska uloga, koja omogućuje prijelaz metaboliziranih produkata (mokraćna kiselina, bilirubin, urea, itd.) i ugljičnog dioksida obrnutim putem iz krvotoka djeteta u krvotok majke, koji se iz organizma majke izlučuju zajedno i na isti način kao raspadni produkti u organizmu majke; **c)** endokrina funkcija posteljice je bitna uloga u kojoj posteljica sudjeluje cijelu trudnoću. Vrlo rano sinciciotrofoblast počinje izlučivati gonadotropni hormon, humani korijalni gonadotropin (HCG), a kasnije i steroidne hormone. Takva uloga posteljice omogućuje zajedno s hormonima jajnika održavanje trudnoće (43). Potkraj 4. mjeseca posteljica izlučuje dovoljno progesterona za održavanje trudnoće, u slučaju da je žuto tijelo odstranjeno ili mu je poremećena funkcija. Osim progesterona posteljica izlučuje i estrogene hormone (većinom estriol) , što se povećava do pred kraj trudnoće, kada dosiže najvišu razinu (43). Velike količine estrogena potiču rast maternice i razvoj mliječnih žlijezda. Somatomamotropni hormon (stari naziv placentarni laktogen) sličan je hormonu rasta i daje fetusu prednost pred majkom u iskorištavanju glukoze iz majčine krvi, zbog čega se govori, da je trudnoća posebno dijabetogeno stanje u kojem su kroz trudnoću žene sklonije razviti šećernu bolest; **d)** uz endokrinu važna je i protektivna uloga posteljice, jer priječi prolazak većine mikroorganizama iz krvotoka majke u krvotok djeteta. Za ovu, ali i za ostale funkcije posteljice vrlo je bitna uteroplacentarna membrana; **e)** prijenos majčinih protutijela sinciciotrofoblast

omogućuje pinocitozom u fetalne kapilare. Tako fetus dobiva majčina protutijela iz skupine imunoglobulina G (IgG) protiv različitih zaraznih bolesti, te stječe pasivni imunitet protiv difterije, velikih boginja, ospica i drugih zaraznih bolesti, ali ne protiv vodenih kozica i hripavca. Pasivni imunitet je važan, jer fetus ima malu sposobnost stvaranja vlastitih protutijela i stječe ga, tek nakon rođenja (43).

1.5. PLACENTA DIJABETIČNIH TRUDNICA

Posteljica je složeni organ ograničenog vijeka trajanja sa središnjom ulogom tijekom trudnoće, koji odvaja maternalnu od fetalne cirkulacije (44,45). Od svih organa pokazuje najveće strukturalne i funkcijske varijacije. Razvoj posteljice počinje oplodnjom jajne stanice, a funkcija joj prestaje podvezivanjem ili presijecanjem pupčane vrpce nakon rođenja ploda. Posteljica je organ, koji nastaje spajanjem tkiva majke (decidua basalis) s tkivom fetusa (chorion frondosum) u funkcionalnu cjelinu, koja služi za prijenos informacija i izmjenu tvari između krvi trudnice i krvi ploda. Uranjanje sinciciotrofoblasta u decidualno promjenjen endometrij označava početak razvoja placente. Cjeloviti morfološki i funkcionalni razvoj placenta dostiže krajem trudnoće. Placenta se razvija tijekom tri razdoblja: 1) previlusno razdoblje; 2) vilusno razdoblje; i 3) maturacija placente. Prvo razdoblje obuhvaća prelakunarno (6-9. dana) i lakunarno (10-13.dana) razdoblje. Tijekom tog razdoblja dolazi do trofoblastične diferencijacije, decidualizacije i implantacije. Drugo, vilusno razdoblje traje od 14. dana do kraja 16. tjedna trudnoće, kad dolazi do nastanka transformacije, diferencijacije i razvoja vilusa i vilusnog stabla. Posljednje razdoblje je vremenski period od 17. tjedna do poroda i obuhvaća vrijeme razvoja, do samog završetka morfogeneze placente i njene funkcije. Trofoblast je epiteloidno raspoređeni periferni sloj stanica morule, odnosno blastociste. Približavanje blastociste i decidualno izmjenjenog endometrija inducira diferencijaciju stanica trofoblasta na dva sloja: unutrašnji, *citotrofoblast* i vanjski *sinciciotrofoblast* (45). Citotrofoblast je germinativni sloj odijeljenjih ovoidnih stanica trofoblasta, koje su pokrivene slojem sinciciotrofoblasta, tako da ne dosižu do interviloznog prostora. Stanice citotrofoblasta parakrino regulira

aktivnost, odnosno biosintetske osobine sinciciotrofoblasta, gdje se sintetiziraju rilizing hormoni, neurohormoni, inhibin i aktin. Sinciciotrofoblast humane placente je specifičan po nedostatku membrane između susjednih stanica, što omogućuje izmjenu tvari i brzi transport između stanica. Brojni mikrovili na vanjskoj membrani nalaze se u direktnom kontaktu s krvotokom majke, te tako povećava aktivnu površinu između trudnice i ploda. Stanice sinciciotrofoblasta sintetiziraju specifične hormone i proteine za trudnoću. Biološka funkcija placentnih proteina svrstava ih u grupu hormona, proenzima, enzima, aktivatora ili inhibitora pojedinih enzima, faktora rasta, receptora za hormone, transportnih ili strukturalnih proteina (44,45). Funkcionalna aktivnost i jednog i drugog sloja stanica, vilusa, regulirana je faktorima rasta citokinima placentnog, fetalnog ili maternalnog porijekla. Strukturu embrionalne stanice čine redovi polimorfnih klasa I i II (HLA) nasljeđenih od oca i majke koji dolaze u direktan kontakt s krvlju majke i majčinim imunokompetentnim stanicama. Nema ekspresije niti stvaranja antigena klase I i II, koji su glavni kompleksi histokompatibilnosti. Stanice viloznog citotrofoblasta ne sadrže na svojoj površini antigene klase I, ali se u njihovim stanicama može naći m-RNA za te antigene. Stanice citotrofoblasta izvan-viloznog prostora i stanice u horionskoj membrani sadrže antigene HLA klase Ib lokusa HLA-6. Citotrofoblastni prostor je barijera između ploda i trudnice, dva genetski različita organizma, koji predstavlja barijeru na mjestu neposredne morfofunkcionalne veze. Horion predstavlja zajedničku cjelinu sinciciotrofoblasta, citotrofoblasta i ekstraembrionalnog mezenhima. Specifičnost ovog tkiva je, da pokazuje najizraženije strukturne i funkcijske varijacije u odnosu na vrstu i sve ostale organe. S obzirom na svoj položaj izložena je stalnom djelovanju hormonalne aktivnosti, citokina, faktora rasta i svih ostalih tvari s fetalne i maternalne strane (45). Stoga je za očekivati, da će bilo kakve promjene, odnosno poremećaji u majčinoj i fetalnoj cirkulaciji imati na neki način odraza i na strukturu i funkciju placente. Takvi poremećaji najčešće uključuju: hiperglikemiju ili hipoglikemiju; povišenu ili sniženu koncentraciju inzulina; povišene vrijednosti glukokortikoida, nekih lipida i lipoproteina; kao i promjene u koncentraciji aminokiselina. Katkada je i dobro kontrolirana šećerna bolest tijekom trudnoće povezana s stanjima hiperglikemije i hiperinzulinemije u fetusa. Oba stanja mogu znakovito djelovati na transportere glukoze, kao i na receptorska mjesta (44).

Posljedice djelovanja dijabetičke okoline na strukturu i funkciju posteljice snažno ovisi o kvaliteti regulacije glikemije tijekom osjetljivog i vulnerabilnog razvoja posteljice (46). Nakon što se blastocista implantira u sluznicu endometrija struktura posteljice se počinje kontinuirano razvijati nizom diferencijacijskih i proliferacijskih procesa, koji na kraju dovode do stvaranja placentnih resica različitog stupnja zrelosti. Resice slobodno plivaju u krvi majčinog interviloznog prostora (47). Te resice su suprotnost prema takozvanim sidrenim resicama, koje predstavljaju fiziološko sidro za prileţeći endometrij i deciduu majke. Te resice nastaju u prvom trimestru trudnoće, kao rezultat proliferacije, diferencijacije i invazije trofoblasta s vrha resica u endometrij. Invazija istodobno usidruje resice u endometrij i dovodi do preoblikovanja krvnih žila endometrija u krvne žile sa smanjenim otporom cirkuliranja krvi. S time se postupno povećava protok krvi kroz intervilozni prostor i omogućuje dostatnu prehranu feto-placentne jedinice. U slučajevima izostalog otvaranja lumena spiralnih arterija od strane trofoblasta, mogu se razviti različita patološka stanja, kao što je preeklampsija i/ili intrauterini zastoj u rastu (IUGR), spontani pobačaji ili druga patološka stanja, koja svjedoče o osjetljivosti tih promjena, prema dijabetičkom djelovanju (47). Još uvijek nije potpuno jasno ima li hiperinzulinemija (48), hiperleptinemija (49), visoke vrijednosti izoprostana (50) i drugih faktora utjecaj, na invazijske defekte trofoblasta. Svi razvojni stadiji pokazuju određeni stupanj vulnerabilnosti, zbog čega je nužna stroga regulacija glikemije u trudnica dijabetičarki. Dobra regulacija glikemije može smanjiti mogućnost pothranjenosti fetusa i placente, koje mogu nastati i u slučajevima znakovite sposobnosti posteljice, da se prilagodi nastalim promjenama. Specifičan položaj placente izlaže posteljično tkivo utjecaju različitih metaboličkih razgradnih produkata, kako s fetalne, tako i s maternalne strane. Djelovanje dijabetičkog miljea može se očekivati preko sinciciotrofoblasta s maternalne strane i endotela s fetalne strane cirkulacije, jer je prisutnost receptora, transportera, ionskih kanala i drugih molekula prisutna s obje strane placente. Središnja uloga placente je zaštitno prilagođavajuće djelovanje na novonastalo stanje, kako bi se zaštitio fetus od štetnog dijabetogenog djelovanja u dijabetičkih trudnica. Razvoj placente je složen slijed različitih procesa, koji najvećim dijelom završava na kraju drugog tromjesečja trudnoće. Poslije tog razdoblja rast placente ovisi o povećanju stvorene mase

posteljičnog tkiva. Bilo koji poremećaj metabolizma ugljikohidrata tijekom vulnerabilne faze diferencijacije placente u prvom ili drugom tromjesečju može rezultirati promjenama u posteljičnom tkivu, koje se mogu odraziti na kasniji fetalni rast i razvoj (51). Razvoj placente može biti oštećen djelovanjem bilo kakvog metaboličkog ili hormonalnog inzulta tijekom rane trudnoće (52). Usporenje i zastoj u razvoju placente u trudnica dijabetičarki, tijekom prvog tromjesečja usporedno prati rani embrionalni zastoj u rastu, što se obično odražava s manjom težinom placente i manjim sadržajem proteina (53,54,55), manjom razinom cirkulirajućih specifičnih placentnih hormona (npr. HPL) i smanjenim brojem stanica trofoblasta. Spomenute promjene mogu biti odraz loše regulirane glikemije u trudnica dijabetičarki; odnosno odraz stanja hiperglikemije (56). Dosadašnja istraživanja potvrđuju nastala placentarna oštećenja kod trudnica dijabetičarki, koja se javljaju u obliku pletoričnog izgleda placente, korangioze, edema, promjena terminalnih vilusa, infarkta placente, fetalne-placentne skleroze, fibroze ili promjena debljine bazalne membrane vilusa (47). Mikroskopski vidljive morfološke promjene placente vidljive su češće u trudnica s loše reguliranim glikemijama šećerne bolesti. Najčešće promjene su u 30-50% slučajeva karakterizirane povećanjem ukupne površine perifernih dijelova viloznog stabla. Vilusi pokazuju anizomorfiju, pojačanu vaskularizaciju s većom dužinom i širim lumenom kapilara (57), premda vilusi mogu biti i hipovaskularni. Prema Altshuleru, kada se u barem tri područja posteljice na 10 ili više vidnih polja srednjeg povećanja nalazi više od 10 kapilara u više od 10 terminalnih resica, radi se o promjeni nazvanoj korangioza (chorangiosis) (58). Rast endotelnih stanica može biti stimuliran prekomjernom produkcijom angiogenih faktora rasta, kao što su: fibroblastični faktor rasta-2 (59), vaskularni endotelni faktori rasta ili placentni inzulinu sličan faktor rasta. Specifična povezanost endotelnih stanica smanjuje barijeru, te tako može ubrzati metaboličku funkciju placente i smanjiti difuzijsku udaljenost za prijenos kisika. Navedeno predstavlja odraz adaptacijskih sposobnosti placente, kao reakciju na žarišna ili difuzna zadebljanja bazalne membrane s kolagenom tip-IV (60). Kolagen tip-IV sadrži ugljikohidrate preko puta neenzimatske glikozilacije iz maternalne ili fetalne hiperglikemije (61). Iz toga proizlazi da su moguća oštećenja trofoblasta, te je poremećen transport tvari koje difundiraju kroz bazalnu membranu trudnica s

dijabetesom. Povećana je mogućnost nalaza tromboze fetalnih arterija, obliteracije lumena žile i fibroziranja strome. Povećanjem mezenhimalnog tkiva, te većim sadržajem DNA dolazi do placentomegalije. Takve placente sadrže veće količine triacilglicerola/triglicerida, fosfolipida, kolesterola, te se mijenja sadržaj dugolančanih masnih kiselina (62). Terminske placente dijabetičnih trudnica pokazuju brojne varijacije i odstupanja od placenta zdravih trudnica. Opseg takvih promjena uključuje promjenu morfologije, protoka krvi, transportnih mehanizama, regulacije rasta placentnog tkiva, sinteze steroida, što dalje uključuje patološke promjene i reakciju na oksidativni stres (51).

1.5.1. Transport i metabolizam posteljice

1.5.1.1. Kisik i željezo

Morfologija placente nije jedina odrednica izmjene i transporta hranjivih tvari između majke i fetusa. Za transport ovisan o difuziji, kao što je transport plinova važnu ulogu ima i koncentracijski gradijent između majke i fetusa, kao i protok krvi kroz majčinu i fetalnu stranu placente. Mehanizmi transporta posredovanih nosačima također ovise o broju i intrinzičnoj aktivnosti nosača, koji također mogu biti predmet poremećaja kod dijabetesa. U stanjima prijeteće fetalne hipoksije dolazi do smanjenja parcijalnog tlaka kisika (pO_2) u arterijskoj krvi ploda, dolazi do adaptacijskih mehanizama fetusa, koji mu omogućuju normalan stupanj oksidacijskog metabolizma glukoze (tahikardija, visoki minutni volumen, izražen afinitet HbF za O_2, povećana koncentracija Hb i Bohrov efekt), te se na taj način štiti od anaerobnog metabolizma i razvoja metaboliče acidoze. U takvim slučajevima smanjenja potpora kisikom potiče stvaranje eritropoetina u placenti dijabetičkih trudnica, koja dalje zbog pojačane eritropoeze stvara veće potrebe za željezom (63). Zbog navedenih promjena dolazi i do porasta broja placentarnih receptora za transferin (64). Željezo se prenosi vezano za transferin preko spomenutih receptora na membrani sinciciotrofoblasta, te preko kompleksa receptor-transferin dolazi do lizosomskih vezikula unutar stanica sinciciotrofoblasta. Tu dolazi do disocijacije željeza od transferina, nakon čega se unutar stanice veže za intermedijarni nosač sličan feritinu, koji dalje služi za transport

kroz placentnu membranu. Daljnjom disocijacijom ovog kompleksa željezo dolazi do fetalne krvi, gdje se veže za fetalni transferin (65).

1.5.1.2. Ugljikohidrati, glukoza

Metabolizam ugljikohidrata u trudnoći je vrlo složen proces, zbog znakovitih promjena u hormonalnom statusu i nastanku glukoznog fetoplacentnog šanta. Humani fetus je gotovo u cijelosti ovisan o majčinoj glukozi, koja prolazi kroz posteljicu, a vrlo malo ovisan o vlastitoj produkciji malih količina glukoze. Glukoza prelazi mehanizmom olakšane difuzije, koja ima određene specifičnosti kao što su: stereospecifičnost, saturacija i kompetitivna inhibicija. Navedena obilježja objašnjavaju se postojanjem proteinskog nosača u staničnoj membrani, koja može vezati glukozu i njoj slične monosdaharide. Transporteri glukoze u placenti su proteini koji se nalaze u plazmatskoj membrani sinciciotrofoblasta i mikrovilima, molekularne mase 55.000. U posteljicama terminskih trudnica postoje specifični transporteri za glukozu (GLUT-1, GLUT-3, GLUT-4, GLUT-8, GLUT-12) (66,67). Transporteri glukoze ubrajaju se u porodicu glukoznih transportera ovisnih o natriju. Transport kroz placentu odvija se koncentracijskim gradijentom i posredovan je molekulama glukoznog transportera GLUT-1 i GLUT-3, koje se nalaze u sinciciotrofoblastu i endotelu (68,66,67). I GLUT-1 i GLUT-3 nisu akutno podložni regulaciji inzulinom, kao što je transplacentarni prijenos glukoze. GLUT-1 je dominantan transporter na stanicama trofoblasta s asimetričnom distribucijom 3:1 između mikrovilusa i bazalne membrane (69,15). Uloga GLUT-8 transportera još uvijek nije u potpunosti jasna, ali je zapažena promjena u koncentraciji ovog transportera u placenti dijabetičnih trudnica, uz nepromjenjenu razinu ukupnih placentnih transportera GLUT-1, GLUT-3 i GLUT-4 (69,15). Insulin senzitivni transporteri GLUT-3, GLUT-4 i GLUT-12 su smješteni pretežno na fetalnoj strani placente (endotelne stanice i stroma), odakle mogu ubrzati prijenos glukoze iz fetalne cirkulacije. Transplacentarni prijenos ima visoki kapacitet prijenosa. Saturacija prijenosa glukoze dostiže se pri koncentracijama višim od 20 mmol/L (360 mg/dL). Visoke vrijednosti glikemije dovode do smanjenja broja transportera GLUT-1 na površini stanične membrane i translocira transporter GLUT-1 u unutrašnjost stanice; posljedica je manje funkcionalno dostupnih glukoznih

transportera na površini stanica humanog trofoblasta, te ga tako čini nedostupnim za majčinu glukozu. Takve se promjene objašnjavaju kao zaštitni mehanizam fetusa, da se obrani od prekomjernog dotoka glukoze i hiperglikemije (70,17). Osjetljivost GLUT-1 transportera na hiperglikemička djelovanja javlja se tek tijekom trećeg tromjesečja trudnoće, što izostaje tijekom prvog trimestra (71,18). I u perfuzijskim modelima placente in vitro transplacentarni prijenos patofizioloških vrijednosti glukoze od majke prema fetusu je kod gestacijskog dijabetesa nepromjenjen, iako se tendencija smanjivanja transporta može primjetiti u žena koje su tretirane dijetom u usporedbi s onima koje su tretirane iznulinom (72). Određena količina glukoze može se retrogradno transportirati od fetusa prema placenti (73). Transporteri GLUT-1, GLUT-3, GLUT-4 i GLUT-12 mogu transportirati glukozu retrogradno u placentu, gdje se pohranjuje u endotelne stanice u obliku glikogena. Razina glikogena placente u dijabetičnih trudnica je povišena (74). Glikogen se primarno odlaže oko fetoplacentarnih krvnih žila, što može biti posljedica fetalne hiperinzulinemije (75). Takvo odlaganje bi moglo imati određeni puferski sistem u smislu odlaganja viška glukoze u slučajevima kada su depoziti glikogena u jetri saturirani. U svijetlu niske vrijednosti glukoza-6-fosfataze u placenti, koja je ključni enzim za defosforilaciju glukoza-6-fosfata, glukoza-6-fosfat koja nastaje razgradnjom depozita glikogena ulazi u proces glikolize kojom nastaje laktat ili ulazi u pentofosfatni put, što dovodi do povećane produkcije NADPH.

1.5.1.3. Lipidi, steroidi

Osim poremećaja metabolizma ugljikohidrata diabetes je združen i sa promjenama u sadržaju i sastavu lipida. Maternalni izvori fetalnih lipida uključuju triacilglicerole/trigliceride u lipoproteinima, fosfolipide, kolesterol estere i slobodne masne kiseline. Transport arahidonske kiseline u dijabetičkih trudnica je povišen od majke prema fetusu. U placenti dolazi do akumulacije triacilglicerola/triglicerida, prostaciklina i tromboksana, koji se stvaraju iz arahidonske kiseline. Dolazi do porasta razine slobodnih masnih kiselina i triacilglicerola/triglicerida, smanjuje se razina fosfolipida, dok se vrijednosti diglicerida i dihidroksi masnih kiselina ne mijenja (76). Triacilgliceroli/trigliceridi ne prolaze kroz placentu direktno, ali se mogu hidrolizirati

na slobodne masne kiseline i glicerol pomoću lipoproteinske lipaze na površini mikrovila i sinciciotrofoblasta (76). U placenti su detektirane tri lipaze, čija je aktivnost veća u trudnica dijabetičarki, što ujedno korelira s tjelesnom težinom fetusa (77), ali i njihova smanjena aktivnost može korelirati s intrauterinim zastojem u rastu (78). Slobodne masne kiseline prolaze kroz placentu pomoću razlike u koncentraciji i postojanja materno-fetalnog koncentracijskog gradijenta (79). Slobodne i esterificirane masne kiseline prolaze placentarnu membranu običnom difuzijom. Koncentracija miristata, palmitata, stearata i linoleata u plazmi majke direktno korelira s njihovom koncentracijom u umbilikalnoj veni fetusa (80). Udio masnih kiselina koje prolaze i pohranjuju se u posteljicu ovisan je i može varirati ovisno o koncentraciji prisutne glukoze. Osobito je povišen sadržaj dokozaheksaenske, C 22:6 n-3 kiseline (81). Dijabetes melitus je obično združen s povišenim razinama linoleata u placenti trudnica (62). Lipidi prolaze kroz placentu tijekom cijelog razdoblja trudnoće, međutim masne se kiseline mogu i de novo stvarati u fetusu iz ugljikohidrata i acetata. Esterifikacija slobodnih masnih kiselina u triacilglicerol (TAG) može se odvijati u placenti, praćena je lipolizom i prelaskom u fetalnu cirkulaciju. Uloga slobodnih masnih kiselina (SMK/FFA) u oslobađanju energije u normalnim okolnostima je minimalna, one su uglavnom depoi energije za neonatalno razdoblje. Prijenos masnih kiselina kroz placentu se povećava, kako se smanjuje dužina lanca od C16 do C8, a tada se za masne kiseline s C6 do C4 prijenos smanjuje (81). Odlaganje arahidonske kiseline, C 20:4 n-6 u placente trudnica s tipom 1 šećerne bolesti je povišeno. Ona se inkorporira i odlaže u obliku triacilglicerola/triglicerida placente. Eikosanoidi iz arahidonske kiseline, C 20:4 n-6 su 3 do 6 puta viši u diabetičnih trudnica s tendencijom stvaranja tromboksana A_2 preko prostaciklina (82). Neravnoteža u produkciji eikosanoida u dijabetičkih trudnica može utjecati na smanjeni protok krvi kroz umbilikalne krvne žile. Fetalna razina LDL kolesterola i HDL-3 kolesterola je podjednaka kod dijabetičkih trudnica s tipom 1 šećerne bolesti i zdravih trudnica, međutim vrijednost HDL-2 kolesterola je povišena u dijabetičkim trudnoćama (83,84). Kolesterol prolazi kroz posteljicu sporo, dok se fosfolipidi hidroliziraju, a nakon toga resintetiziraju u placenti. Medijator transporta je apolipoproteinski receptor B, koji se nalazi na površini stanica mikrovilusa sinciciotrofoblasta (85,86). Najveći dio kolesterola koji dolazi u placentu koristi se za

biosintezu steroida (84). U stanicama sinciciotrofoblasta placente dolazi do sinteze steroida (estriol, testosteron, progesteron), koji se transportiraju u majčinu i fetalnu cirkulaciju. Transfer kortizola je olakšan s majčine strane, dok je s fetalne strane ograničen. Općenito je u dijabetičnih trudnica pojačan transfer lipida prema fetusu uz ograničenu mogućnost odlaganja u placenti.

1.5.1.4. Aminokiseline, polipeptidi, proteini

Aminokiseline ulaze u stanice sinciciotrofoblasta preko specifičnih transportnih proteina, koji se nalaze u membrani stanice. Nosači su specifični za određene aminokiseline. Mehanizam transporta je stereospecifičan, uz postojeću kompetitivnu inhibiciju transporta, kada je transportni mehanizam zasićen visokim koncentracijama u krvi majke. Aminokiseline maternalnog porijekla predstavljaju glavni izvor dušika za placentu i fetus (87). Aminokiseline su prisutne u krvi fetusa u većoj koncentraciji nego u krvi majke. Većina se aminokiselina transportira suprotno koncentracijskom gradijentu velikim brojem transportera, od kojih su neki ovisni o natriju. Razinu natrija održavaju Na^+/K^+-ATP-aze, smještene u bazalnoj, odnosno fetalnoj strani sinciciotrofoblasta. Ukoliko dođe do inhibiranja aktivnosti Na^+/K^+-ATP-aze dolazi do porasta koncentracije intracelularnog natrija, što rezultira smanjenim utroškom aminokiselina (88). Različiti prijenosnici se mogu različito ponašati, kao odgovor na dijabetes. Unatoč znakovitom otporu placentnih enzima prema hormonskim regulacijskim promjenama aktivnost je nekih od njih kod dijabetesa povišena. Prvo dolazi do porasta koncentracije aminokiselina u stanicama trofoblasta, a tek nakon toga do transfera niz koncentracijski gradijent u fetalni krvotok. Zanimljivo je da su svi oni uključeni u puteve kojima dolazi do stvaranja NADPH, kao što su glukoza-6-fosfat dehidrogenaza ili 6-fosfoglukonat-dehidrogenaza. Sinteza steroida je u posteljici pojačana, a nastali NADPH bi mogao biti potreban za cijepanje postraničnih lanaca kolesterola i za NADPH-citokrom-P450 reduktazu, kao komponentu aromataznog sistema (45). Placentni enzimi se sustavno izlučuju i nisu posebno podložni hormonalnom djelovanju. To daje stabilnost placenti i štiti njene metaboličke funkcije od štetnog utjecaja poremećenog maternalnog miljea. Ovakav zaključak se temelji na proučavanju zrele placente, dok bi situacija tijekom prvog tromjesečja mogla biti

drugačija. Jedna od potpora ovakvoj tvrdnji bazira se na spoznaji, da su inzulinski receptori početkom trudnoće smješteni na majčinoj strani placente, dok je u terminu mjesto receptora na endotelnim stanicama fetalnih krvnih žila (89). To bi moglo ukazivati na autonomiju još neidentificiranog procesa ovisnog o inzulinu u placenti sa strane majčinog inzulina u kasnijim stadijima trudnoće i favoriziralo bi regulacijsku ulogu fetalnog inzulina. U slučajevima poremećene enzimatske funkcije, koji se zapaža kod loše regulirane glikemije dijabetičkih trudnica ukupna aktivnost enzima je smanjena (91). Inzulin nije samo regulator metabolizma, nego je i faktor rasta. Fetalni inzulin može stimulirati rast posteljice u kasnijim stadijima trudnoće. Istraživanja na eksperimentalnim modelima su pokazala, da je fetalna hiperinzulinemija u primata povezana s placentama veće težine (92). Kod trudnica s tipom 1 šećerne bolesti unatoč striktnoj regulaciji glikemije, možemo naći određen stupanj fetalne hiperinzulinemije i može nastati prekomjerni rast placente (placentomegalija). Pojava placentomegalije čak nije rijetka pojava u dijabetičkih trudnica, naročito u onih s loše reguliranim glikemijama. Trudnice dijabetičarke s dugotrajnom šećernom bolesti i sa sekundarnim promjenama na krvožilnom sustavu mogu imati poremećenu invaziju trofoblasta, što u konačnici može rezultirati insuficijencijom feto-placentne jedinice i manjom težinom posteljice (92). Neke aminokiseline placente dolaze retrogradnim putem iz fetalne cirkulacije. One se metaboliziraju, modificiraju i ponovno vraćaju u fetalnu cirkulaciju. Ovaj ciklus je specifičan za glutamin/glutamat i asparagin/aspartat. Dušični amid glutamina i asparagina u fetusu se sintetizira iz pirimidina, te se ugrađuje u nukleinsku kiselinu (93). Na taj je način omogućen brzi rast fetusa. Polipeptidi ne prolaze fetoplacentnu membranu ili to čine u neznatnoj količini, što se događa u slučaju prolaska majčinih hormona (TSH,ACTH, inzulin) u krv fetusa. Proteini se različito ponašaju. Pinocitozom prolaze iz krvi majke u fetalnu cirkulaciju. Albumini prolaze sporije i u manjoj količini, nego visokomolekularni gamaglobulini. Relativno lako prolazi IgG, IgM prolazi otežano ili uopće ne prolazi, a IgA ne prolazi placentnu membranu.

1.5.1.5. Nukleotidi

Placentomegalija i ekscesivan fetalni rast zahtjevaju povećanu produkciju DNA i RNA, koja je omogućena potporom nukleotida i riboze, kao građevnog materijala. Povećana je aktivnost pentoza-fosfata u placenti dijabetičkih trudnica (94). Neovisni transporteri nukleotida preko transportnog sistema nosača stimuliraju njihov prolazak od majke k fetusu. Nosači se nalaze u mikovilusima i bazalnoj membrani sinciciotrofoblasta (95). Na^+-ovisni transporter nukleotida transportira adenozin, inozin i timidin; isto se nalazi u mikrovilusima, bazalnoj membrani, ali može se naći i u endotelnim stanicama placente.

1.5.2. Oksidativni stres u placenti dijabetičkih trudnica

Oksidativni stres se jednostavno definira kao neravnoteža između prekomjerne produkcije tvari ovisnih o kisiku i mogućnosti antioksidansa (superoksid dismutaza, glutation peroksidaza, glutation S-transferaza, katalaza, vitamin E, β-karoten, askorbinska kiselina) da ih eliminiraju iz organizma. Slobodni radikalni su kemijski nestabilni i vrlo reaktivni spojevi; u ljudskom organizmu stalno se odvijaju reakcije, koje dovode do stvaranja slobodnih radikala. Direktne posljedice se ne uočavaju odmah, budući je organizam zaštićen prisutnošću antioksidacijskih tvari koje u određenim granicama održavaju ravnotežno stanje. Ova ravnoteža može se poremetiti nedostatkom antioksidansa, povećanjem perooksidansa (spojevi koji favoriziraju oksidaciju) i/ili povećanjem peroksidacijsog supstrata, jer se u takvim stanjima javljaju slobodni radikali. Tada dolazi do tzv. oksidacijskog stresa, koji za posljedicu ima poremećaj normalnog rada stanice ili čak dovodi u pitanje preživljavanje same stanice. Jednom kad nastanu slobodni radikali podliježu lančanim reakcijama u kojima teže postizanju ravnotežnog stanja i privlače atom vodika nekog drugog supstrata. Takvom reakcijom dolazi do ubrzanog starenja stanica organizma, te do nastajanja raznih bolesti među kojima je i šećerna bolest. Oksidativni stres se češće javlja u trudnica s tipom 1 šećerne bolesti. Koncentracija lipidnih peroksida pokazatelj je oksidativnog stresa. U normalnoj trudnoći dolazi do porasta oksidativnog stresa, ali ne dolazi do porasta

koncentracije lipidnih peroksida. Razlog tome je porast antioksidacijskog kapaciteta organizma u normalnoj trudnoći, zbog porasta koncentracije vitamina E (96). U trudnica s preeklampsijom dodatno se povećava oksidativni stres uz istodobno znakovito smanjenje antioksidativnog kapaciteta u odnosu na normotenzivne trudnice. Inicijalno mjesto oksidativnog stresa u preeklampsiji je placenta. Osim kod preeklampsije i u dijabetičnih trudnica dolazi do disfunkcije endotelnih stanica s posebno većom osjetljivosti endotelnih stanica, krvnih žila s fetalne strane. Slobodni radikali kisika mogu biti posljedica produženog djelovanja hiperglikemije. U placenti je povećana aktivnost enzima ksantin oksidaze, koji potiče stvaranje reaktivnog superoksidnog aniona, a smanjena je aktivnost enzima superoksid dismutaze, koja razgrađuje superoksid. Povećana prisutnost superoksidnog aniona omogućuje njegovu reakciju s dušikovim oksidom. Smanjenje raspoloživog dušikovog oksida pridonosi vazokonstrikciji (97). U dijabetičkih trudnica povećan je oksidativni stres, te se povećava koncentracija izoprostana i lipidnih peroksida, koja je posljedica smanjene antioksidacijske aktivnosti. Unatoč takvim promjenama stanice trofoblasta su otporne, te dolazi do bubrenja mitohondrija, koji mogu stvarati morfološki normalne slobodne radikale kisika uključujući superoksid dismutazu (98). Izoprostani imaju direktni vazokonstrikcijski učinak, potiču aktivaciju trombocita, a vjerojatno uzrokuju i smanjenu invazivnost trofoblasta (99,50,100). Lipidni peroksidi povećavaju sintezu tromboksana A_2, a imaju i izravna vazokonstrikcijska svojstva.

1.5.3. Antioksidacijski kapacitet

U placenti se nalaze brojni antioksidansi. Aktivnost katalaze i superoksid dismutaze napredovanjem trudnoće postupno raste, dok je aktivnost glutation peroksidaze i α-tokoferola nepromijenjena. Takvo stanje tumači se kompenzatornim protektivnim djelovanjem placente, koje može biti u kroničnim stanjima reducirano i odraz djelovanja oksidativnih tvari. U stanjima redukcije antioksidacijskog kapaciteta i smanjene aktivnosti superoksid dismutaze, katalaze, glutationa ili vitamina E dolazi do porasta peroksidacije lipida, koja se može vidjeti kod stanja preeklampsije ili dijabetesa

(101). Stoga primjena antioksidansa može imati protektivno djelovanje na promjene i reaktivnost vaskularnog endotela u trudnica s dijabetesom i preeklampsijom.

1.5.4. Dušični oksid i superoksid u placenti

Dijabetes mellitus je poremećaj metabolizma, koji je praćen pojačanom produkcijom mangan-superoksid dismutaze (102) ili raznim oblicima dušičnog oksida s pojačanom aktivnošću enzimastskog sustava endotelnih stanica placente, te stvaranjem izo-oblika NO-sintetaze (103). Prema drugim istraživačima ovakva promjena nije uvijek detektabilan nalaz (104). Porast aktivnosti superoksida je posljedica prekomjerne aktivnosti transporta elektrona u mitohondriju iz glikiranih proteina. Niže koncentracije dušičnog oksida mogu djelovati antioksidacijski, što može inhibirati transport elektrona (105). Bioaktivnost dušičnog oksida može se inhibirati djelovanjem aniona superoksida. Anion peroksinitrata ($ONOO^-$) ima snažno oksidacijsko djelovanje na brojne biomolekule (106). Djelovanje peroksinitrata u trudnica s tipom 1 šećerne bolesti pokreće peroksidaciju lipida, inhibira transport elektrona u mitohondriju endotelnih stanica fetalnih krvnih žila placente, oksidira sulfhidrilne skupine proteina, što dovodi do difuzije produkata u predležeću stromu vilusa placente i inducira angiopatiju (107). Izolirana primjena peroksinitrata u eksperimentalnih životinja, u obliku infuzije kroz fetalno srce dovodi do smanjene mogućnosti relaksacije miofibrila (108). Posljedica takve kontinuirane infuzije je vaskularna disfunkcija (109). Ovakve spoznaje sugeriraju moguću ulogu peroksinitrata u patološkim procesima placente u dijabetičkih trudnica.

1.5.5. Protok krvi kroz placentu dijabetičkih trudnica

Dosadašnje spoznaje i klinička iskustva ukazuju na znakovitost adekvatnog placentarnog protoka krvi za normalan fetalni rast i razvoj. Dobar placentarni protok osigurava transport mnogih tvari među kojima su kisik i glukoza, koji su bitni za razvoj

fetusa in utero. U trudnoći postoji nekoliko kritičnih razdoblja koje mogu biti uzrokom za loš perinatalni ishod. Poremećaji s većom učestalošću javljanja u trudnoći su: spontani pobačaji, preeklampsija, te intrauterini zastoj u rastu fetusa javljaju se češće kod dijabetičkih trudnica (110,111,112,14). U spomenutim slučajevima može doći do poremećaja invazije trofoblasta, koja povećava rizik od nastanka ovakvih komplikacija. Mogući uzroci za spomenute ishode pripisuju se djelovanju hiperglikemije, ali i inzulinu, leptinu i izoprostanima. S obzirom na još uvijek nedovoljan broj kliničkih istraživanja o invaziji trofoblasta u sijelo placente dijabetičkih trudnica, ne može se sa sigurnošću govoriti o nekom kliničkom iskustvu. Neke placente trudnica s tipom 1 šećerne bolesti imaju veću učestalost fibrinoidnih nekroza i ateroza u decidualnom ležištu (113). Premda doplerske analize protoka krvi kroz placentu Salvesena i suradnika (114), te Fada i suradnika (115) ukazuju na normalan protok ne može se isključiti štetno djelovanje hiperglikemije s obzirom na mali broj uzoraka. Istraživanja Rotha i suradnika (116) na izoliranim kotiledonima humane placente potvrđuju štetno djelovanje hiperglikemije pri koncentracijama većim od 8,9 mmol/L (160 mg/dL), te dokazuje osjetljivost feto-placentne cirkulacije u dijabetičnim trudnoćama.

1.6. PLACENTA I DIJABETES

Zahvaljujući svom položaju posteljica je izložena regulacijskim utjecajima i od strane majke i od strane fetusa i može se očekivati da će poremećaji u majčinoj i fetalnoj cirkulaciji imati na neki način utjecaja na strukturu i funkciju posteljice. Takvi poremećaji uključuju hiperglikemiju, hipoglikemiju, povišenu ili sniženu koncentraciju inzulina, povišene vrijednosti glukokortikoida, nekih lipida i lipoproteina, kao i promjene u koncentraciji aminokiselina. Tijekom prvog trimestra procesom diferencijacije i proliferacije dolazi do stvaranja placentnih resica različitog stupnja zrelosti, koje slobodno plivaju u krvi majčinog interviloznog prostora. Uz njih stvaraju se i tzv. sidrene resice koje predstavljaju fiziološko sidro za prileţeći endometrij i deciduu majke. Invazija ne samo da usidruje već dovodi i do preoblikovanja krvnih žila endometrija u žile smanjenog otpora. Izostanak otvaranja lumena spiralnih arterija

od strane trofoblasta može rezultirati patološkim promjenama kao što je intrauterini zatoj u rastu ili preeklampsija (117,36). Povećana učestalost spontanih pobačaja, preeklampsije, IUGR-a u dijabetičkih trudnica u usporedbi s zdravim trudnicama svjedoči o osjetljivosti tih promjena, prema dijabetičkom udaru, iako se čini prema nekim autorima, da glukoza takvih utjecaja nema (118). Sadržaj posteljice je često u dijabetesu promijenjen kao rezultat visokih vrijednosti DNK, proteina i lipida (119). Zapaža se i povišena vrijednost nekih masnih kiselina (120), što se povezuje s povećanom težinom placente. Da li se mogu naći slične promjene i u posteljicama normalne težine, što je rezultat dobre regulacije glikemije ostaje nepoznato. Tijekom cijele trudnoće dolazi do adaptacijskih promjena u metabolizmu ugljikohidrata, aminokiselina i lipida, što je neophodno za uredan fetalni rast. Alteracije metabolizma ugljikohidrata i aminokiselina su do sada prilično poznate, međutim fiziologija lipida i njihova znakovitost za fetalni razvoj nije u cijelosti proučena. Stalni priliv različitih metabolita iz majčine cirkulacije omogućuje i pomaže fetalni razvoj. Obilan i bogat transplacentarni prijenos glukoze i aminokiselina ide bez većih ograničenja, dok je transfer lipida ograničen (121). Ponekad lipidi imaju poseban utjecaj na razvoj fetusa, što je vidljivo u stanju majčine hiperkolesterolemije, koja može biti otponac za kasnija patogenetska zbivanja u obliku aterosklerotskih promjena na krvnim žilama u kasnijem životnom razvoju (122,123,11). Prva dva tromjesečja intrauterinog razvoja praćena su obično stanjima hiperinzulinemije uz normalnu ili povišenu osjetljivost na inzulin (124), koja je rezultat povećane potrebe za hranom. Razdoblje trećeg tromjesečja karakterizirano je prelaskom iz prethodnog stanja anabolizma u stanje kataboličke razgradnje, koja omogućuje sve veći transfer hranjivih tvari kroz posteljicu u smjeru fetusa za sve brži fetalni razvoj. Takvo stanje se javlja tijekom gladovanja krajem trudnoće kada se lipolitičkom aktivnošću smanjuje nakupljanje lipida u masnom tkivu, uz usporedni razvoj sve izraženije inzulinske rezistencije (125). Loše regulirane glikemije tijekom prvih 7 tj. gestacije u trudnica s tipom 1 šećerne bolesti karakterizira široki spektar razvojnih abnormalnosti uključujući pre-implantacijski gubitak embrija, nastanak kongenitalnih malformacija, te rani embrionalni zastoj u razvoju embrija. Premda je mehanizam ovih zbivanja još nedovoljno istražen u kliničkom radu, laboratorijska istraživanja na životinjskim modelima ukazuju na teratogeni učinak

hiperglikemije na eksperimentalne modele. Nekoliko poznatih mehanizama na molekularnoj razini ukazuje na štetno i destruktivno djelovanje, kao što je prekomjerna produkcija metabolita osjetljivih na kisik s aktivacijom protein kinaze c-izoforme, alteraciju metabolizma arahidonske kiseline, C 20:4 n-6 porast heksozamina, te porast koncentracije metabolita polyol forme. Poremećaji regulacije glikemije krajem trudnoće uključuju ubrzani rast fetusa i povećan rizik od nastanka LGA (large-for-gestational age), RDS-a (respiratory distress syndrome), nastanak neonatalne hipoglikemije i hipomagneziemije. Takav prekomjerni priliv glukoze djeluje, kao inicijalni faktor s posljedičnim prijevremenim dozrijevanjem i sekrecijom inzulina iz fetalnog pankreasa, te posljedičnom fetalnom hiperinzulinemijom i prekomjernim rastom fetusa (126,127). Osim glukoze i neki drugi metabolički faktori imaju utjecaj, kao što je triacilglicerol (TAG) majke (128). Glukoza je glavni izvor energije za razvoj fetoplacentarnog tkiva. U normalnim okolnostima tijekom rane trudnoće bazalne vrijednosti glukoze i koncentracije inzulina se ne razlikuju u gravidinih i negravidinih žena (129,130), te nema razlike u aktivnosti hepatalne glukoneogeneze, koja je nepromjenjena (130,131). Razdoblje kasnog graviditeta karakterizirano je većom sklonošću k stanjima hipoglikemije, naročito u stanjima gladovanja. U takvim prilikama dolazi do pojačane aktivnosti hepatalne glukoneogeneze (132,11). Hipoglikemija je djelomično rezultat stanja pojačane razgradnje glukoze (133). Postupni pad koncentracije majčinih aminokiselina može se zapaziti tijekom ranog graviditeta, ali i kasnog graviditeta. Većina aminokiselina transportira se suprotno koncentracijskom gradijentu s velikim brojem transportera, od kojih su neki ovisni o natriju. Transfer aminokiselina od strane majke je ograničen, budući da određene količine aminokiselina idu i sa strane fetalne cirkulacije. Različiti prijenosnici mogu se različito ponašati, kao odgovor na šećernu bolest (134,135). Aktivnost nekih enzima posteljice kod dijabetesa je povišena. Zanimljivo je da su svi enzimi uključeni u puteve u kojima dolazi do stvaranja NADPH-a, kao što su glukoza-6-fosfat-dehidrogenaza ili 6-fosfoglukonat-dehidrogenaza (136). Enzimi posteljice se sustavno izlučuju i nisu posebno podložni hormonskoj regulaciji. Takva aktivnost daje stabilnost posteljici i štiti njene metaboličke funkcije od štetnih utjecaja poremećenog majčinog miljea, proučavanih na zrelim terminskim posteljicama. Spaciotemporalne promjene

inzulinskih receptora ukazuju da su receptori tijekom rane trudnoće smješteni na majčinoj strani posteljice na sinciciotrofoblastu, dok je u terminu mjesto lokalizacije i ekspresija tih receptora na endotelu fetalnih krvnih žila (137). Unatoč nekim promjenama prijenosnika na molekularnoj razini, čini se da prijenos aminokiselina ostaje u trudnica s dijabetesom unutar fizioloških i patofizioloških koncentracija netaknut (137).

Akumulacija lipida u masnom tkivu trudnice rezultat je metaboličkih promjena lipida u masnom tkivu i usporednog razvoja hiperlipidemije. Pohranjivanje lipida tijekom rane trudnoće može biti rezultat prekomjernog uzimanja hrane i pojačane sinteze lipida, masnih kiselina i glicerid glicerola u masnom tkivu (133), te povećane osjetljivosti masnog tkiva prema inzulinu (122). Akumulacija lipida majke se usporava kroz zadnje tromjesečje, kao odraz povećane lipolize masnog tkiva. Ovakva lipolitička aktivnost se zapaža u trudnica, ali i eksperimentalnih životinja u stanjima gladovanja (138,139,140). Produkti lipolize su slobodne masne kiseline (FFA-free fatty acid) i glicerol, koji se oslobađaju u cirkulaciju. Transplacentarni prijenos ovih tvari je kvantitativno mali, ali glavno sijelo metaboličke razgradnje je jetreni parenhim, gdje se poslije konverzije u aktivni oblik acil-koenzim-A (acyl-Co-A) i glicerol-3-fosfat dijelom reesterificira za sintezu triacilglicerola (TAG), te se oslobađa u cirkulaciju u obliku lipoproteina vrlo niske gustoće (VLDL-very low density lipoprotein). Glicerol se može iskoristiti za sintezu glukoze i slobodnih masnih kiselina (FFA), za β-oksidaciju do acetil-Co-A, te proizvodnju energije i sintezu ketonskih tijela (141). Ovakva zbivanja su učestala krajem trudnoće u fazi gladovanja (135). Pojačana lipolitička aktivnost krajem trudnoće često je združena i s hiperlipidemijom; uglavnom dolazi do porasta triacilglicerola (TAG), a manjim dijelom do porasta fosfolipida (PL) i kolesterola (CH). Povišene vrijednosti triacilglicerola (TAG) u plazmi povezane su s povećanom produkcijom VLDL-a u jetri, te smanjenom sposobnošću eliminacije iz cirkulacije, zbog smanjene aktivnosti lipoproteinske lipaze (LPL) (142). I kod zdravih trudnica se mogu naći povišene vrijednosti triacilglicerola (TAG) i drugih lipoproteinskih frakcija, kao što su LDL (low density lipoprotein) i HDL (high density lipoprotein) (142), koje preko oblika esencijalnih masnih kiselina i dugolančanih nezasićenih masnih kiselina uz prisutnost CETP (cholesteryl ester transfer protein)

transplacentarno prelaze u smjeru fetusa (142,143). Dio HDL-a se metabolizira u kolesterol-ester/esterificirani kolesterol (CE/EC). U trudnica je u takvim stanjima transplacentarni prijelaz izložen djelovanju glukoze, esencijalnih masnih kiselina, nezasićenih dugolančanih masnih kiselina, ketonskih tijela, te oslobođenih aminokiselina iz skeletne muskulature.

1.7. TRANSPORT LIPIDA KROZ POSTELJICU

Triacilgliceroli (TAG) cirkuliraju u obliku lipoproteina plazme, te ne prelaze direktno placentarnu barijeru (144), međutim transfer lipida je omogućen preko receptorskih mjesta za VLDL, LDL i HDL u stanicama trofoblasta. Različitom lipolitičkom aktivnošću lipaza uključujući LPL (lipoproteinsku lipazu), fosfolipazu A_2 i intracelularnu lipazu omogućuju prijelaz u posteljicu, nakon hidrolize, te se potom kao masne kiseline u posteljici ponovno reesterificiraju i sintetiziraju glicerolipide, koji služe kao rezervoar masnih kiselina (145,146). Intracelularna hidroliza glicerolipida oslobađa masne kiseline, koje difundiraju u fetalnu plazmu. Manji dio lipoproteina, te slobodne masne kiseline iz plazme majke predstavljaju važan izvor višestruko nezasićenih masnih kiselina (PUFA – polyunsaturated fatty acid) za fetus. Na membrani stanica posteljice nalaze se posebni proteini FABP (fatty acid-binding protein) (146), koji su zaduženi za transfer nezasićenih masnih kiselina (PUFA) (147). Selektivni unos masnih kiselina može doprinijeti metaboličkoj konverziji u prostaglandine i druge eikozanoide ugradnjom pojedinih masnih kiselina u fosfolipide stanične membrane, oksidaciji masnih kiselina, ali i sintezi drugih masnih kiselina. Transfer kolesterola (CH) kroz posteljicu zapažen je u nekih životinjskih vrsta, kao što su štakori, svinje i Rhesus majmuni. U ljudi je u nekoliko istraživačkih programa (148) proučena i dokazana pozitivna korelacija koncentracije kolesterola u plazmi majke i u umbilikalnoj krvi, što u drugim studijama nije potvrđeno (149). U ranim fazama trudnoće postoji utjecaj kolesterola majke, koji se odražava i na koncentraciju kolesterola u plazmi fetusa, dok je u terminskim trudnoćama oslobađanje kolesterola (CH) iz posteljice prema fetusu zanemarivo, a glavni izvor sinteze endogenog kolesterola je kolesterol fetalnog porijekla (150). Uz makrosomnu novorođenčad kod

loše reguliranih glikemija u trudnica s tipom 1 šećerne bolesti imamo obično višu razinu ukupnih lipida i lipoproteina u odnosu na zdravu populaciju trudnica, dok je razina kolesterola (CH), fosfolipida (PL) i triacilglicerola (TAG) u umbilikalnoj krvi povišena i korelira sa slobodnim masnim kiselinama (SMK/FFA) fetalnog porijekla (151,83). Povišena razina slobodnih masnih kiselina (SMK/FFA) u fetalnoj cirkulaciji u trudnica s tipom 1 šećerne bolesti vjerojatno je uzrokovana većom ponudom slobodnih masnih kiselina (SMK/FFA) iz majčine cirkulacije, jer postoje izvješća, koja potvrđuju porast materno-fetalnog gradijenta u trudnica dijabetičarki (152), što može potaknuti sintezu kolesterola (CH), triacilglicerola (TAG) i fosfolipida (PL) u fetusu (152,153). Primjeren fetalni rast rezultat je kontinuirane metaboličke potpore iz majčine cirkulacije. U zdravih trudnica osobitost prva dva tromjesečja intrauterinog razvoja je stanje povremene hiperinzulinemije, uz normalnu ili povišenu inzulinsku osjetljivost. Osobitost zadnjeg tromjesečja je sve izraženije djelovanje inzulinske rezistencije, uz izraženiji katabolizam, te djelovanje na masno tkivo majke i sve izraženiji transport hranjivih tvari u smjeru posteljice i fetusa (144). Trudnice s loše reguliranim oblicima tipa 1 šećerne bolesti izložene su brojnim komplikacijama tijekom rane trudnoće, ali i određenim specifičnim promjenama krajem trudnoće. Tako tijekom ranog embrionalnog razvoja imaju veću učestalost spontanih pobačaja, veća je učestalost kongenitalnih malformacija, ranog embrionalnog zastoja u rastu, te nastanka majčine hiperglikemije s potencijalno mogućim teratogenim djelovanjem (154,54,100,126). Kasniji tijek trudnoće praćen je ubrzanim rastom fetusa, nastankom hipertrofije fetusa (LGA large for gestational age), veće učestalosti respiratornog distres sindroma (RDS respiratory distress syndrome) i nastanka neonatalne hipoglikemije (155,126). Stanje inzulinske rezistencije krajem trudnoće dovodi do pojačane lipolitičke aktivnosti masnog tkiva, te oslobađanja različitih metabolita lipida u cirkulaciju majke. U jetri dolazi do pojačane produkcije VLDL-triacilglicerola, te pada ekstrahepatalnog djelovanja LPL-a, što može rezultirati stanjem hipertriacilglicerolemije majke (156,11). Porast razine estrogena krajem trudnoće može pospješiti produkciju VLDL-triacilglicerola, dok niže razine estrogena, koje susrećemo u dijabetičkih trudnica mogu umanjiti takve promjene.

U osnovi ovakvih spoznaja može se zaključiti, da trudnice s dobro reguliranim tipom 1 šećerne bolesti imaju manje mogućnosti za metaboličke alteracije, pri kojima su i manje mogućnosti nastanka hipertriacilglicerolemije, te nastanka stanja pojačane lipolitičke aktivnosti. S tim je ujedno smanjena direktna ili indirektna mogućnost transporta pojedinih frakcija lipida u smjeru fetusa.

1.8. TRANSPORT MASNIH KISELINA KROZ POSTELJICU

Masne kiseline, posebno esencijalne masne kiseline su nutritivne tvari, koje znakovito daju doprinos za normalni fetalni razvoj (157,158,159,160,161,162). Nezasićene masne kiseline s n-3 i n-6 dvostrukom kovalentnom vezom smatraju se esencijalnim masnim kiselinama. Ovo se bazira na činjenici, da sisavci ne mogu stvoriti dvostruku kovalentnu vezu na alifatskoj strani lanca na položaju n-3 i n-6 od karboksilne skupine (162), zbog čega se fetus mora osloniti na majčinu cirkulaciju, te njihov transplacentarni prijelaz, kao glavni izvor ovih kiselina (161). Prijenos ovih masnih kiselina je znakovito određen i usmjeren od majke prema fetusu (157,158,159,160,161,162). Esencijalne masne kiseline su uključene u sintezu fosfolipida i staničnih membrana, sintezu mijelina, gangliozida, glikolipida i sfingomijelina (162). Transport hranjivih tvari kroz posteljicu reguliran je brojnim aktivnim transporterima, koji se nalaze na površini bilo s maternalne ili fetalne strane posteljice. Esencijalne masne kiseline su uključene u sintezu i metaboličke puteve prostaglandina, prostaciklina, leukotriena, tromboksana, eikosanoida i lipoksina (162). Sposobnost prolaska masnih kiselina kroz posteljicu od vitalnog je značenja za razvoj fetalnog mozga (158,159,162), fetalni rast (160), te kardiovaskularni i plućni razvoj (161,163,164,165,166,167,168,169,170,171,172,173,174). Transport masnih kiselina je reguliran s nekoliko proteinskih prijenosnika: **$FABP_{pm}$** (plasma membrane fatty acid binding protein), **FAT** (fatty acid translocase), **FATP** (fatty acid transporter protein) i citoplazmatski **FABP** (fatty acid binding protein family) (19). Prijenosnici su locirani u stanicama posteljice s maternalne i/ili fetalne strane, te trofoblastu viloznih prostora.

FAT, FATP i $FABP_{pm}$ se nalaze na staničnim membranama, dok se FABP nalazi u citoplazmi, kao citoplazmatski proteinski prijenosnik masnih kiselina (176). $FABP_{pm}$ je 40-kDa membranski proteinski nosač (176,177), koji regulira unos dugolančanih masnih kiselina (178,179,180,181,182), osim toga ima i mitohondrijsku aktivnost aspartat-aminotransferaze (183). Posebna izoforma proteinskog nosača je **$pFABP_{pm}$** koji ima specifičnu enzimatsku aktivnost (176,177). Specifična aktivnost je u sklonosti vezanja nekih dugolančanih esencijalnih masnih kiselina, prvenstveno arahidonske, C 20:4 n-6 i dokozaheksaenske, C 22:6 n-3 masne kiseline s mogućom ulogom prijenosa tih masnih kiselina, kroz posteljicu (177), ali i mogućeg prijenosa drugih masnih kiselina (184). FAT je prvi 88-kDa membranski proteinski nosač otkriven i specificiran, kao nosač masnih kiselina u adipocitima štakora (185). FAT je istovremeno homologan s humanim CD36 glikoproteinom (185), koji vrši transport oksidiranih masnih kiselina u makrofagima (186,187,188). FATP je 63-kDa protein u adipocitima uključen u transport lipida (189). Oba prijenosnika, FAT i FATP nalaze se u trofoblastu posteljice trudnica. FABP je citoplazmatski proteinski nosač od 12 do 16-kDa zadužen za intracelularnu distribuciju masnih kiselina (190,191), te se vjeruje da ima važnu ulogu u metabolizmu, transportu i ugradnji masnih kiselina u staničnu membranu (190).

Danas je poznato da postoji 5 proteinskih nosača, koji imaju ulogu prijenosnika masnih kiselina kroz posteljicu (192). Triglicerid-hidrolaza je enzim u staničnim membranama mikrovilusa, koji oslobađa masne kiseline iz cirkulirajućih lipoproteina, te predstavlja početni korak u prijenosu masnih kiselina kroz posteljicu. Trudnice s tipom 1 šećerne bolesti imaju u posteljici znakovito povećanu aktivnost lipoproteinske lipaze (LPL), u odnosu na zdrave trudnice. Primjeren prijenos masnih kiselina kroz posteljicu u smjeru fetusa ima znakovitu ulogu za uredan fetalni razvoj, predstavlja važan izvor energije u izgradnji stanične membrane, te je važan signalizirajući prekursor staničnih molekula.

Transportni epitel u posteljici predstavlja sinciciotrofoblast, koji sa sincicijskim stanicama i graničnom površinom u obliku četke ili mikrovilusa membrane stanica treperi u majčinom krvotoku, dok se bazalni sloj stanične membrane nalazi na strani fetalnih kapilara (193). U terminskim posteljicama nakon oslobađanja slobodnih

masnih kiselina iz VLDL-a ili hilomikrona dolazi do transporta i vezanja masnih kiselina za FABP, koje se dalje translociraju u stanicu (194,195,196). Citoplazma stanica sinciciotrofoblasta ima dva transportna proteina FABP (kardijalni transportni protein C-FABP i jetreni L-FABP transportni protein) (197). Svaki od spomenutih transportnih proteina ima specifičan transportni afinitet, tako da C-FABP vrši transport dugolančanih masnih kiselina, dok L-FABP ima heterogene ligande namjenjene za žučne soli i eikosanoide (198). Triacilgliceroli (TAG) i fosfolipidi (PL) se pohranjuju kao kapljice u citosolu, te se intracelularnom lipolizom razgrađuju prije daljnjeg transporta u smjeru fetusa. Slijedi ubrzana difuzija kroz bazalnu membranu u fetalnu cirkulaciju. Vezani na albumin fetalne plazme transportiraju se dalje do jetrenog parenhima, gdje se oslobađaju slobodne masne kiseline (SMK/FFA), koje se mogu dalje esterificirati u triacilglicerole (TAG) i fosfolipide (PL). Na taj način slobodne masne kiseline u esterificiranoj formi ulaze u sastav fetalnog VLDL-a. Trudnoće kompliciranе tipom 1 šećerne bolesti obično imaju povišen materno-fetalni koncentracijski gradijent posebno za slobodne masne kiseline (SMK/FFA) i triacilglicerole (TAG) (199,200). To se može objasniti u trudnica s tipom 1 šećerne bolesti s većom učestalosti rađanja fetusa s povećanom tjelesnom masom (201,11). U takvim slučajevima dolazi do akumulacije triacilglicerola (TAG) i fosfolipida (PL) u posteljici, što je rezultat pojačanog unosa, hidrolize i reesterifikacijske aktivnosti posteljice u trudnica dijabetičarki (202,119). U takvim slučajevima uslijed fiziološke aktivnosti, te povećanog transfera slobodnih masnih kiselina (SMK/FFA) i triacilglicerola (TAG) u smjeru fetusa dolazi do taloženja lipida u posteljičnom tkivu (203,204).

1.9. KARBOKSILNE KISELINE

Karboksilne kiseline su sastavni dio masti i ulja. Prema kemijskom karakteru mogu biti zasićene i nezasićene, ovisno o tome da li su veze između ugljika u lancu karboksilne kiseline zasićene ili nezasićene (205,206). Da li će nešto biti mast ili ulje određuje upravo količina zastupljenih zasićenih ili nezasićenih karboksilinih kiselina.

Masti su najkoncentriraniji izvor energije, koji unosimo hranom u organizam. Masti se nalaze u sastavu velikog dijela namirnica prisutnih u svakodnevnoj prehrani. Kada se uzimaju u većim količinama postaju opasno oružje za zdravlje organizma. Danas je poznato da višak masti u prehrani kroz duže vremensko razdoblje pogoduje nastanku raznih bolesti od pretilosti, šećerne bolesti, kardiovaskularnih i drugih bolesti. Karboksilne kiseline su izgrađene od C_2 jedinica, tj. od ostatka octene kiseline (acetil-CoA) (206,207). U prirodi ima najviše kiselina s 16 i 18 ugljikovih atoma, tj. palmitinske $C_{16}H_{32}O_2$ i stearinske masne kiseline $C_{18}H_{36}O_2$ (207). Svinjska mast je primjer triacilglicerola (TAG) sa zasićenim masnim kiselinama (uglavnom stearinska i palmitinska kiselina), dok ulja imaju visok sadržaj nezasićenih masnih kiselina, osim palminog ulja koje sadrži pretežno zasićenu palmitinsku kiselinu. Prema kemijskom karakteru vrste masnih kiselina mogu biti: *zasićene masne kiseline* (kratkolančane, srednjelančane, dugolančane); *jednostruko nezasićene masne kiseline* i *višestruko nezasićene masne kiseline* (205). Opća formula karboksilinih kiselina je R-COOH, gdje je R-ugljikovodični lanac s različitim brojem ugljikovih atoma, a COOH karboksilna skupina karakteristična za sve karboksilne kiseline (205,206). Najjednostavniji niz organskih kiselina gradi se prema homolognom nizu alkana. Karboksilne kiseline se imenuju tako da se ispred nastavka –ska kiselina dodaje ime alkana ovisno o broju ugljikovih atoma (207). Tako će npr. kiselina s 3C atoma po alkanu propanu imati naziv - propanska kiselina CH_3CH_2COOH, iako je njeno puno češće korišteno ime propionska ili mliječna kiselina, jer je nalazimo u mlijeku. Iznad deset ugljikovih atoma javljaju se takozvane masne kiseline. To su organske, karboksilne kiseline koje imaju veći broj ugljikovih atoma od običnih karboksilinih kiselina (207). Takve su kiseline masnog opipa i krutog agregatnog stanja. Osnovni sastojak svih masti (lipida) su masne kiseline, koje inkorporirane u lipidima služe za dobivanje energije. Izgaranjem jednog grama masti dobiva se 9 kalorija, dok izgaranjem grama šećera i bjelančevina dobivamo svega 4 kalorije. Osim energetskog djelovanja koriste se za izgradnju stanične membrane, kao sastavni dio lipida stanične membrane, lipidi su nosioci prijenosa liposolubilnih vitamina A,D,E i K, te imaju i neke protektivne učinke (207). Zasićene masne kiseline u svom molekularnom sastavu imaju sva moguća vezna mjesta zauzeta atomima vodika. Stoga ih nazivamo

zasićenima. Radi se o tvarima koje uglavnom nalazimo u mastima životinjskog porijekla, ali i pojedinim namirnicama biljnog porijekla. Glavna im je osobina da su pri sobnoj temperaturi u krutom stanju (mast, loj, maslac, palmino ulje, margarin). Jednostruko nezasićene masne kiseline imaju mogućnost vezanja još dva atoma vodika u molekuli masne kiseline. Pri sobnoj temperaturi nalaze se u tekućem agregatnom stanju, redovito su biljnog porijekla i nazivamo ih biljnim uljima (najpoznatija masna kiselina je oleinska, C 18:1 n-9 masna kiselina, glavni sastojak maslinovog ulja) (207). Višetruko nezasićene masne kiseline imaju uglavnom četiri slobodna mjesta na atomima ugljika na koje se mogu vezati atomi vodika. Najpoznatija masna kiselina od te skupine je linolna, C 18:2 n-6 masna kiselina, koja ulazi u sastav brojnih biljnih ulja. Velik izvor ovih masnih kiselina su ribe, naročito plava riba. Općenito nezasićene masne kiseline čine veliku skupinu masnih kiselina, koje se dijele na esencijalne masne kiseline (ne mogu se stvoriti u organizmu; linolna, C 18:2 n-6, linolenska, C 18:3 n-3, arahidonska, C 20:4 n-6) i neesencijalne masne kiseline (207). Esencijalne masne kiseline su one masne kiseline koje su neophodne za normalno funkcioniranje organizma, a moraju se unijeti hranom, jer se u organizmu ne sintetiziraju. To su dvostruko nezasićena linolna, C 18:2 n-6 i trostruko nezasićena α-linolenska, C 18:3 n-3, koje su polazne supstancije za sintezu dugolančanih trostruko i višestruko nezasićenih masnih kiselina npr. EPA (eikozapentaenska, C 20:5 n-3 m.k.) i DHA (dokozaheksaenska, C 22:6 n-3 m.k.), GLA (γ – linolenska, C 18:3 n-6 m.k.), DHGLA (dihomo- γ-linolenska, C 20:3 n-6 m.k.) i druge. Dok su zasićene masti neophodne u prehrani osoba koje se bave težim fizičkim radom i sportom, nezasićene moraju biti prisutne u velikim količinama tijekom trudnoće, dojenja, a kasnije prehrane dojenčadi, djece i adolescenata.

Masne kiseline mogu imati dvije osnovne strukture: CIS oblici i TRANS oblici masnih kiselina (207). S razvojem tehnoloških mogućnosti obrade masti dolazi do strukturnih promjena iz CIS oblika u TRANS oblike masnih kiselina. CIS oblici predstavljaju prirodnu strukturu masnih kiselina, koja se različitim tehnološkim procesima može narušiti i stvoriti TRANS oblike masnih kiselina, koja je neprirodna i ljudski organizam je ne može iskoristiti. Kada su ljudi shvatili da prekomjerna upotreba zasićenih masti dovodi do razvoja nekih bolesti bilo je logično da zasićene

masti pokušaju zamijeniti nezasićenim mastima. Razvijani su tehnološki procesi proizvodnje margarina u kojem se procesom hidrogenacije molekule vodika dodaju molekuli nezasićene masne kiseline (206). Trebalo je nekoliko desetljeća da bude potvrđeno da se i ovim procesom prirodni CIS oblici prevode u neprirodne, čak po zdravlje rizične TRANS masne kiseline. Trans masne kiseline i hidrogenirana ulja doprinose razvoju nedostatka esencijalnih masnih kiselina, padu imuniteta, pretilosti, pojavi šećerne bolesti, kolesterola, razvoju krvožilnih bolesti, većoj učestalosti poroda djece niske porođajne težine, itd.

1.9.1. Omega-3 i omega-6 masne kiseline

Dvije posebne skupine esencijalnih masnih kiselina su omega-3 (α-linolenska, C 18:3 n-3; eikozapentaenska, C 20:5 n-3; dokozaheksaenska, C 22:6 n-3 m.k.) i omega-6 (linolna, C 18:2 n-6; γ-linolenska, C 18:3 n-6; arahidonska, C 20:4 n-6 m.k.) masne kiseline (207). Oznaka omega predstavlja posljednji ugljikov atom na kraju ugljikovog lanca, a brojka 3 i 6 broj atoma ugljika na kojem se prvi puta pojavljuje dvostruka veza. Obje skupine podliježu istim enzimatskim procesima, premda ne mogu međusobno prelaziti jedna u drugu i prekursori su različitih prostaglandina. Konverzija linolne, C 18:2 n-6 kiseline i α-linolenske, C 18:3 n-3 masne kiseline u druge višestruko nezasićene dugolančane masne kiseline LC-PUFA (long-chain polyunsaturated metabolites) ovisna je o enzimima desaturazi i elongazi, koje su ovisne o vitaminima B6, B3, C, magneziju i cinku, a njihovo djelovanje smanjuje TRANS oblike masnih kiselina, zasićene masne kiseline i alkohol (208,205).

1.9.2. Lipidi stanične membrane

Stanična membrana je građena od dvostrukog sloja fosfolipida s masnim kiselinama okrenutim prema unutrašnjosti dvosloja (209). Lanci masnih kiselina su u stalnom pokretu, a fluidnost membrane (stupanj molekularnog gibanja unutar membrane) primarno je određena prirodom masnih kiselina, ugrađenim proteinima, vitaminima, kolesterolu itd. Za pravilno funkcioniranje staničnih membrana potreban je relativno visok stupanj nezasićenih masnih kiselina prvenstveno višestruko

nezasićene dugolančane masne kiseline LC-PUFA (long-chain polyunsaturated metabolites), jer zasićene masne kiseline stvaraju gotovo kristalnu strukturu u kojoj je molekularno gibanje svedeno na minimum (209). Masti iz hrane mogu djelovati na sastav membrane, a pohranjene masti imaju uglavnom različit sastav (208). U zapadnim zemljama, gdje je hrana bogata mastima, unesene masne kiseline iz hrane pohranjuju se u adipocite, dok iz hrane bogate ugljikohidratima adipociti sami sintetiziraju masne kiseline (uglavnom palmitinsku, C 16:0; stearinsku, C 18:0 i oleinsku, C 18:1 n-9). Samo u mliječnim žlijezdama mogu se sintetizirati kratkolančane i srednjelančane masne kiseline, dok sva ostala tkiva sintetiziraju dugolančane masne kiseline (209). Najzastupljenije višestruko nezasićene masne kiseline nalaze se u staničnim membranama mijelina (72%), eritrocita (43%), stanicama jetre (52%), unutrašnjoj membrani mitohondrija (24%), te ostalim manje zastupljenim stanicama, zbog čega su spomenute stanice najizloženije djelovanju nedostatka višestruko nezasićenih dugolančanih masnih kiselina (LC-PUFA) (205). Promjene na staničnim membranama očituju se, kao promjene u propusnosti/permeabilnosti (vode, niskomolekularnih hranjivih elemenata, elektrolita), promjene provodljivosti električnih impulsa, gubitku intercelularnog transporta kroz međustanične spojeve, slabijem odgovoru na podražaj hormonima itd. Tako je beta-oksidacija i oksidativna fosforilacija u jetrenim mitohondrijima manje djelotvorna u slučaju nestabilnih membrana, što dovodi do smanjene mogućnosti pretvorbe hrane u energiju. Stabilnost i integritet membrane stvara uvjete za efikasno funkcioniranje enzima, receptora i drugih proteina koji se nalaze unutar stanične membrane (209,210). Osim toga višestruko nezasićene dugolančane masne kiseline (LC-PUFA) imaju važnu ulogu u sastavu moždane tvari, jer oko 50% suhe tvari mozga čine lipidi (209). Oko polovine ukupno zastupljenih lipida čine višestruko nezasićene dugolančane masne kiseline (LC-PUFA), i to arahidonska, C 20:4 n-6 i dokozaheksaenska, C 22:6 n-3 (DHA) masna kiselina, koje se preko posteljice transportiraju fetusu. Majčino mlijeko također sadrži dovoljne količine ovih masnih kiselina. Stoga nedonoščad, koja se hrane zamjenskim pripravcima bez višestruko nezasićenih dugolančanih masnih kiselina (LC-PUFA), a ne majčinim mlijekom, mogu imati promjene koje se odražavaju na retini oka ili inteligenciji djeteta (206). Djeca s bogatijom prehranom s omega-3 masnim kiselinama

imaju razvijenije kognitivne sposobnosti, kao i bolji kvocijent inteligencije (IQ). Dugotrajni nedostatak ovih masnih kiselina narušit će lokalni metabolizam stanične membrane, te rezultirati promjenama i pojavom bolesti.

1.9.3. Eikosanoidi

Specifične vrste nezasićenih masnih kiselina sa 20 (eikoza) i 22 (dokoza) ugljikova atoma, koje su pohranjene u membranskim fosfolipidima (PL), mogu biti oslobođene i transformirane u eikozanoide, hormonima slične tvari, koje djeluju lokalno na mjestu izlučivanja, čak i u koncentracijama manjim od 10^{-9} (211). U grupu eikozanoida ubrajaju se ciklički endoperoksidi (prostaciklini, prostaglandini, tromboksani), te derivati hidroperoksi masnih kiselina (leukotrieni i hidroksi masne kiseline) (211). Prostaciklini i tromboksani imaju potpuno suprotno fiziološko djelovanje. Prostaciklini koji nastaju u stijenkama arterija su jedni od najpoznatijih inhibitora agregacije trombocita. Oni također relaksiraju arterijske stijenke i uzrokuju smanjivanje krvnog tlaka (211). Tromboksani, koji se nalaze u trombocitima stimuliraju agregaciju, stežu arterijske stijenke i povisuju krvni tlak. Omjer između ovih komponenti i njihovih aktivnosti važan je za održavanje normalne funkcije krvnih žila (211). Postoje i specifična djelovanja unutar grupa, pa se tako razlikuju tromboksani A1, A2, A3 itd. Isto tako razlikujemo grupe prostaglandina od A-F, ovisno o položaju okso i hidroksi grupe na prstenu. Do danas je poznato oko 30 različitih vrsta prostaglandina podijeljenih u tri serije, ovisno o masnoj kiselini iz koje su nastali. Serija 1 prostaglandina nastaje iz dihomo- γ-linolenske, C 20:3 n-6 (omega-6) masne kiseline, intermedijera u omega-6 lancu. Serija 2 nastaje iz arahidonske, C 20:4 n-6 (omega-6) masne kiseline, dok serija 3 nastaje iz eikozapentaenske, C 20:5 n-3 (omega-3) masne kiseline. Prostaglandini tipa 1 imaju protektivno djelovanje, jer sprječavaju nakupljanje trombocita, snizuju krvni tlak, sprječavaju razvoj osteoartritisa, smanjuju bol i upalnu reakciju i pospješuju ekskreciju natrija putem bubrega. Ovaj tip prostaglandina smanjuje i izlučivanje arahidonske, C 20:4 n-6 kiseline iz staničnih membrana, gdje je uskladištena i tako sprječava njenu pretvorbu u prostaglandine E2. Nekoliko studija do sada pokazalo je mogući utjecaj na stvaranje različitih eikozanoida,

mijenjajući količinu i vrstu masnih kiselina u prehrani. Tako zamjena ulja s dominirajućom linolnom, C 18:2 n-6 masnom kiselinom (omega-6), sa hranom i uljima u kojima prevladavaju omega-3 masne kiseline dovodi do povećane sinteze njima pripadajućih eikozanoida, čije je djelovanje manje snažno od onih koji nastaju od arahidonske, C 20:4 n-6 masne kiseline. Za uspješan pokušaj kontrole sinteze korisnih eikozanoida važna su dva enzima: delta-6-desaturaza i delta-5-desaturaza. Delta-6-desaturaza je relativno nespecifičan enzim koji sudjeluje u pretvorbi omega-6 masnih kiselina u aktivirani oblik γ-linolensku, C 18:3 n-6 masnu kiselinu. Funkcija ovog enzima uspostavlja se nakon šestog mjeseca života dojenčeta, zbog čega je važno da majke doje djecu do šest mjeseci, jer je majčino mlijeko bogato γ-linolenskom, C 18:3 n-6 masnom kiselinom (GLA). Aktivnost ovog enzima prirodno se smanjuje sa starenjem, prehranom s više ugljikohidrata, sa previše trans masnih kiselina i previše α-linolenske, C 18:3 n-3 masne kiseline. Sintezu štetnih eikozanoida može smanjiti manja aktivnost delta-5 desaturaze. Inzulin aktivira delta-5 desaturazu, dok ga glukagon inaktivira. Stoga je jasno da sve trudnice koje su u stanju povišene razine inzulina, kao i trenutna stanja nakon neadekvatnih obroka pogoduju aktiviranju ovog enzima i povećanog stvaranja štetnih eikozanoida. Aktivnost ovog enzima smanjuje i prisutnost eikozapentaenske, C 20:5 n-3 (EPA), omega-3 masne kiseline. Iako je EPA prekursor nekih vrsta eikozanoida oni nisu dovoljno snažni, da bi drastično utjecali na neke metaboličke promjene, ali objašnjava veliku ulogu u očuvanju metaboličke ravnoteže i zdravlja. Tako omega-3 masne kiseline smanjuju aterosklerotske promjene i smanjuju rizik od prvog infarkta, ali se takav učinak može dobiti i drastičnim promjenama u prehrani (211). Brojne studije su potvrdile, da omega-3 masne kiseline snizuju vrijednosti kolesterola i triglicerida u krvi.

1.10. METABOLIZAM LIPIDA / MASNE KISELINE

Lipidi čine oko 15% ukupne tjelesne mase. Lipidi uključuju neutralne masti, trigliceride, fosfolipide, kolesterol, steroide, prostaglandine i vitamine topljive u masti. Među različitim kemijskim sastojcima hrane i tijela, te su tvari slične u nekim fizičkim i

kemijskim svojstvima, što osobito vrijedi za svojstvo uzajamne topljivosti. Predstavljaju važan izvor energije za tjelesni metabolizam, sastavni su dio i čine strukturu membrane svake stanice, sudjeluju u transportu liposolubilnih vitamina, služe kao nosači oligosahadida i kao hormoni. Osnovni kemijski sastojak lipida, kako triacilglicerola, tako i fosfolipida, jesu masne kiseline (212). To su ugljikovodične organske kiseline dugih lanaca (212,213). Kolesterol ne sadrži niti jednu masnu kiselinu, ali sterolna jezgra kolesterola sintetizira se iz razgradnih produkata molekula masnih kiselina. Najčešće poznate masti u hrani su neutralne masti, poznate kao triacilgliceroli, koji se koriste za različite metaboličke procese gotovo jednako koliko i ugljikohidrati. Prvi korak u metabolizmu masti je razbijanje masnih kapljica u sitne čestice, tako da digestivni enzimi koji su topljivi u vodi mogu djelovati na velikoj površini. Ovaj postupak se naziva *emulgacija,* postiže se uz pomoć žuči zahvaljujući žučnim solima koje smanjuju površinsku napetost masnih kapljica i omogućuju bolju djelotvornost lipaza na površini masne kapljice. Najvažniji enzim za razgradnju masti je pankreasna lipaza, koja se upotpunjuje djelovanjem manjih količina crijevne lipaze u tankom crijevu. U probavnom se traktu većina triacilglicerida cijepa u glicerol i masne kiseline ili u monogliceride i masne kiseline. Nakon transporta razgradnih produkata, do resica enterocita, gdje se apsorbiraju pasivnom difuzijom, žučne se soli ponovno otpuštaju. Kod dovoljnih količina žučnih kiselina apsorbira se oko 97% masnoća, dok kod manjih količina apsorbira svega 50-60% te količine. Prolazeći kroz epitelne stanice crijeva triacilgliceroli se resintetiziraju u nove molekule triacilglicerola (dugolančane masne kiseline se u enterocitima, odnosno njihovim endoplazmatskim retikularnim prostorima resintetiziraju u triacilglicerole koji se skupljaju u kapljice zajedno s apsorbiranim kolesterolom, fosfolipidima i manjom količinom novostvorenih fosfolipida i kolesterola); stvarajući u agregate, potom ulaze u limfu, u obliku sićušnih dispergiranih kapljica veličine 0,5 mikrona, koje zovemo *hilomikronima*. Hilomikroni se nakon egzocitoze dalje prenose duktusom toracikusom i ispražnjavaju u vensku krv. Masne kiseline kratkih lanaca ulaze u kapilarni krvotok, te kroz portalni krvotok putuju kao slobodne masne kiseline. Glicerol koji se koristi za sintezu nastaje *de novo* sintezom iz α-glicerofosfata. Fosfolipidi se ugrađuju u kapljice svojim masnim dijelom okrenutim prema središtu, a polarni dio je okrenut prema površini što osigurava

mješanje kapljica sa staničnom tekućinom. Mali dio ove površine pokriven je β-lipoproteinom, koji se sintetizira u enterocitima. Uloga β-lipoproteina je da omogući spajanje masne kapljice sa staničnom membranom prije izbacivanja/egzocitoze iz stanice (213). Kolesterol je oblik lipida, koji se koristi za stvaranje žučnih soli, steroidnih hormona i stanične membrane. U krvi je uglavnom vezan za proteinski nosač u obliku lipoproteina. Tako razlikujemo: a) lipoproteine velike gustoće (high-density lipoproteins/HDL); b) lipoproteine niske gustoće (low-density lipoproteins/LDL); c) lipoproteine vrlo niske gustoće (very low-density lipoproteins/VLDL). Višak kolesterola predstavlja glavni faktor u nastajanju ateroskleroze krvnih žila u obliku LDL i VLDL. Visoka koncentracija HDL u odnosu na druga dva oblika lipoproteina predstavlja protektivni faktor, te sprječava nastanak ateroskleroze. Porast koncentracije HDL-a može se postići unosom biljne hrane, fizičkom aktivnošću i unosom nezasićenih masnih kiselina. Pušenje, fizička neaktivnost i unos zasićenih masnih kiselina smanjuje koncentraciju HDL lipoproteina. Višak masti se u organizmu deponira u masno tkivo, odakle se mogu ponovno iskoristiti kao važan izvor energije u fazi gladovanja. Djelovanjem hormona rasta i kortizola masti se oslobađaju iz masnih depoa, prenose u jetru gdje se triacilgliceroli (TAG) razgrađuju na glicerol i masne kiseline (213,212). Masne kiseline se pretvaraju u acetil-Co-A uz prisutan kisik i glukozu, odakle mogu ući u Krebsov ciklus. Ukoliko nema glukoze i dođe do poremećaja metabolizma acetil-Co-A doći će do stvaranja ketonskih tijela(acetoctena kiselina, β-hidroksimaslačna kiselina) u krvi. Dalje dolazi do poremećaja acidobazne ravnoteže s razvojem metaboličke acidoze.

1.10.1. Kratkotrajno noćno gladovanje

Noćno uzdržavanje od jela dovodi do pada razine cirkulirajućeg inzulina, što olakšava otpuštanje slobodnih masnih kiselina (SMK/FFA) iz masnog tkiva (214). Tijekom pada razine cirkulirajućeg inzulina slobodne masne kiseline iz masnog tkiva koriste se kao važan izvor energije za mišiće, srce, bubreg i jetru. U masnoj stanici inzulin je učinkoviti inhibitor hormonski osjetljive lipaze, koja katalizira hidrolizu pohranjenih triacilglicerola, da bi se oslobodio glicerol i slobodne masne kiseline (SMK/FFA) (214). Ovakvo antilipolitičko djelovanje događa se pri koncentracijama

inzulina koje su znakovito niže od onih koncentracija, koje su potrebne za stimulaciju prijenosa glukoze u stanicu (215). Razina prisutnog inzulina tijekom postapsorpcijskog stanja dovoljno je niska, da omogući transport slobodnih masnih kiselina (SMK/FFA) iz masnih zaliha u ekstracerebralna tkiva, kao što su: sistemska muskulatura, srce, korteks bubrega i jetra (215). Slobodne masne kiseline (SMK/FFA) smanjuju glikolizu i usporavaju ulaz piruvata u Krebsov ciklus (212). Količina inzulina koja se smanjuje u portalnoj krvi tijekom noći, ipak nije dovoljna, da bi mogla znakovito pokrenuti proces stvaranja ketonskih tijela iz slobodnih masnih kiselina (SMK/FFA). Adaptacija metabolizma prilikom kratkotrajnog gladovanja ima svoje specifičnosti. S obzirom, da su zalihe jetrenog glikogena ograničene na ~70 grama (212), a bazalna tjelesna utilizacija je oko 200 do 250 grama dnevno, zalihe jetrenog glikogena se brzo potroše za vrijeme gladovanja (216). Rezultat navedenog, tijekom početne faze je ubrzana glukoneogeneza, kako bi zadovoljila potreba tkiva za glukozom, primarno CNS. U početnoj fazi gladovanja ravnoteža se postiže istovremenim djelovanjem hepatalnih i ekstrahepatalnih događanja. Dolazi do povećanog oslobađanja alanina i drugih glikogenih aminokiselina iz sistemske muskulature (217), kao i konverzije alanina u jetri, u glukozu (218). Takvim opažanjima dolazi se do zaključka, da su hepatalni mehanizmi glukoneogeneze stimulirani tijekom kratkotrajnog gladovanja. Adaptacija metabolizma, kod početnog gladovanja (porast glukoneogeneze, glikogenoliza, mobilizacija aminokiselina i lipoliza) olakšana je smanjenom sekrecijom inzulina, kao i skromnim povećanjem razine glukagona u portalnom krvotoku (219,220). U takvim se stanjima koncentracija inzulina primarno kontrolira padom koncentracije cirkulirajuće glukoze, dok se porast glukagona pripisuje usporenom metabolizmu (220). Istovremeno hipoinzulinemija povećava lipolizu i dostupnost slobodnih masnih kiselina (SMK/FFA), te smanjuje perifernu potrošnju glukoze s jedne strane, dok glukagon dominira svojim djelovanjem na razini jetre s druge strane. Ne iznenađuje da je progresivno povećanje cirkulirajućih ketonskih tijela za vrijeme gladovanja također regulirano pomoću inzulina i razine glukagona (221,222). Već razvijena hiperketonemija uključuje: a) povećani dotok slobodnih masnih kiselina (SMK/FFA) iz masnog tkiva; b) povećanje jetrene

oksidacije slobodnih masnih kiselina (SMK/FFA), tzv. „ketogeni kapacitet“; i c) smanjenu koncentraciju ketonskih tijela u perifernim tkivima (223,221).

1.10.2. Tjelesna aktivnost

U razdoblju uzdržavanja od jela, kao i za vrijeme tjelesne aktivnosti stvara se potreba za endogenom potrošnjom energije u tkivima. Zalihe mišićnog glikogena troše se anaerobnom glikolizom, te se energetske potrebe za rad muskulature moraju nadoknaditi direktno iz cirkulacije (224). Tijekom takve aktivnosti glukoneogenetska aktivnost jetre može se povećati za 300-500% (224). Za vrijeme takve tjelesne aktivnosti dolazi do mobilizacije slobodnih masnih kiselina (SMK/FFA) iz masnog tkiva, kako bi smanjile potrošnju zaliha glikogena iz jetre. Ukoliko se tjelesna aktivnost nastavi kroz duže razdoblje, potrošnja slobodnih masnih kiselina (SMK/FFA) poprima sve veću ulogu za pokrivanje energetskih potreba skeletne muskulature (225). Istovremeno se smanjuje potreba za hepatalnom glukoneogenezom iz aminokiselina (225). U toj fazi smanjuje se sekrecija inzulina, dolazi do aktivacije autonomnog živčanog sustava (simpatikusa), te dolazi do povećane aktivnosti kontra-regulatornih hormona: glukagona, kortizola, hormona rasta i kateholamina(epinefrina, norepinefrina). Ovi hormoni dostižu vrhunac za vrijeme pojačane tjelesne aktivnosti (226).

1.10.3. Ingestija glukoze

U normalnim okolnostima uzimanje glukoze ne dovodi do hiperglikemije zahvaljujući različitim homeostatskim mehanizmima, koji dovode do porasta koncentracije glukoze u plazmi, uz održavanje stanja normoglikemije. Uz navedeno su prisutna i druga zbivanja, kao što je: smanjena proizvodnja glukoze u jetri, stimuliran unos glukoze u visceralna tkiva, te unos glukoze u skeletnu muskulaturu. Takvi se procesi aktiviraju porastom razine inzulina i/ili djelovanjem hiperglikemije (227,228). Razina glukoze je dominantan čimbenik za sekreciju inzulina, a osim glukoze postoje i drugi čimbenici koji u tome sudjeluju. Djelovanje inzulina nakon oralnog unosa glukoze je znakovito veće, nego kod parenteralnog unosa. Takvo stanje je rezultat djelovanja glukagonskog peptida-1, gastrointestinalnog peptida (229), te

parasimpatičke aktivnosti crijeva (230). Nakon uzimanja glukoze jetra i skeletna muskulatura imaju dominantnu ulogu. Oko dvije trećine egzogene glukoze odlaže se u mišićno tkivo, dok se preostala trećina glukoze odlaže u visceralna tkiva (npr. jetra i crijeva) (231,229,230). Kvantitativnim prikazom u jetri se smanjuje endogena proizvodnja glukoze za više od 50%; dolazi do 2,5 puta većeg unosa glukoze u visceralna tkiva i peterostrukog porasta unosa u periferna tkiva. Kod uzimanja miješane hrane (ugljikohidrati, masti i bjelančevine) razina glukoze u krvi može oscilirati od 30 do 40 mg/dL u 24 sata. Ova „fina usklađenost" primarno je određena osjetljivošću jetrenog parenhima na minimalne promjene u sekreciji inzulina. Ingestija malih količina glukoze ne mijenja znakovito razinu perifernog inzulina. Inzulin se direktno oslobađa u portalnu venu, te koncentracija inzulina u portalnoj veni može porasti za nekoliko puta. U takvim slučajevima je proizvodnja jetrene glukoze zaustavljena, dok unos periferne glukoze (koja zahtjeva veće razine inzulina za aktiviranje) je samo neznatno ili nije uopće povišena. Tako su u usporedbi s jetrom skeletalni mišić i masno tkivo uključeni u ograničenoj mjeri u metaboličku regulaciju glikemije i na vrlo male unose glukoze (227).

1.10.4. Ingestija bjelančevina

U vrijeme uzdržavanja od jela negativan disbalans dušika u muskulaturi ovisi neposredno o količini aminokiselina, koje se unose hranom bogatom bjelančevinama. Transfer aminokiselina, iz crijeva u mišićno tkivo posredovan je i olakšan djelovanjem inzulina. Prisutan inzulin zaustavlja mišićnu proteolizu (232) i tako stvara pozitivnu prevagu mišićnog dušika (233). Inzulinom posredovan i olakšan proteinski anabolizam u takvim slučajevima je rezultat istovremenog unosa ugljikohidrata i proteina. Uzimanje čisto proteinske hrane u zdravih osoba praćeno je stvaranjem velikih količina aminokiselina visceralnog porijekla. Valin, leucin i izoleucin (BCAA/branched chain amino acids) su aminokiseline, koje čine osnovu iz koje se nadoknađuje potreban dušik za muskulaturu (234,233). Te su aminokiseline zastupljene s >60%, od svih amino kiselina, koje ulaze u cirkulaciju. Ovakva zastupljenost aminokiselina je prisutna i u slučajevima, kad čine svega 20% aminokiselina u proteinskoj hrani (235).

1.10.5. Ingestija masnoća

Inzulin koristi nekoliko komplementarnih mehanizama, da bi izvršio svoj lipogeni učinak. Nakon unosa hrane miješanog sastava dolazi do porasta razine inzulina u plazmi. Posljedica navedene metaboličke aktivnosti je unos, odnosno transport i sinteza triacilglicerola (TAG), koji se deponiraju u jetri i masnom tkivu. Nakon unosa hrane, triacilgliceroli (TAG) se hidroliziraju u slobodne masne kiseline (SMK/FFA) djelovanjem intestinalne lipaze. Kad su jednom apsorbirane iz tankog crijeva slobodne masne kiseline (SMK/FFA) se reesterificiraju u hilomikron-triacilglicerole, koji ulaze u limfni sustav. U kapilarnom endotelu inzulin stimulira lipoproteinsku lipazu, koja hidrolizira hilomikron-triacilglicerole (i endogene lipoprotein-triacilglicerole) natrag u slobodne masne kiseline (SMK/FFA), koje preuzimaju adipociti za sintezu triacilglicerola (TAG) i eventualno deponiranje (45). Inzulin stimulira ulaz glukoze u adipocite preko molekula glukoznog transportera GLUT-4 na površini adipocita; veliki dio glukoze koju uzimaju adipociti iskorišten je za sintezu α-glicerofosfata, koji je potreban u masnom tkivu za esterifikaciju masnih kiselina i stvaranje triacilglicerola (TAG) (237). Osim navedenog porast razine inzulina rezultira i povećanom sintezom masti, smanjuje se cirkuliranje slobodnih masnih kiselina, zaustavlja se formiranje ketonskih tijela i dolazi do povećanog odlaganja u masno tkivo.

1.10.6. Utjecaj spola na homeostazu glikemije

Proučavanjem utjecaja različitih hormona na homeostazu glukoze dolazi se do važnih spoznaja o razlikama uvjetovanih spolom. Reakcija na egzogeno primijenjen inzulin, odnosno uzimanje glukoze prema jedinici inzulina je veća kod muškog, nego kod ženskog spola, što se pripisuje ukupno većoj tjelesnoj masi mišićnog tkiva (238,239). Dodatno tome, poznato je da se reakcija metabolizma kod duljeg gladovanja razlikuje prema spolu. Kod muškog spola gladovanjem dolazi do postupnog pada razine cirkulirajuće glukoze, koja rijetko padne ispod 50mg/dL. Kod žena dolazi do ubrzanog smanjenja razine cirkulirajuće glukoze, koja često padne do 40- 50mg/dL nakon 48 do 72 sata (240). Tumačenje za to ne postoji, iako se sugerira se da je za to vjerojatno odgovorna manja mišićna masa. Potvrda navedenom nalazi se u činjenici, da

je kod gladovanja smanjenja cirkulacija alanina jače izražena kod žena, nego kod muškaraca (240). Bez obzira na sređivanje različitih spoznaja o tome, da žene dostižu niže razine glukoze tijekom produljenog gladovanja nego muškarci, dostupna literatura navodi kontradiktorne podatke o razlikama prema spolu. Nekoliko izvještaja navodi da je utjecaj epinefrina, norepinefrina i hormona rasta na hipoglikemiju i ostale stimuluse znatno veća u muškaraca (241). Drugi pak istraživači nisu uspjeli dokazati takve razlike (242). Menstrualni ciklus u žena također ima svoj utjecaj na metabolizam ugljikohidrata. Unos glukoze je povećan u preovulatornoj fazi ciklusa za vrijeme hiperglikemije (243,244). Kontraregulatorna hormonska reakcija na hipoglikemiju slična je tijekom folikularne i lutealne faze (245).

1.11. METABOLIČKE PROMJENE U ZDRAVIH I DIJABETIČKIH TRUDNICA

U zdravih žena bez dijabetičkog obiteljskog opterećenja i bez anamnestičkih znakova sumnjivih na dijabetes intravenski i peroralni glukoza tolerans test (GTT) mijenja se napredovanjem trudnoće. Vrijednosti nisu patološke i ostaju u granicicama normale, ali je nakon oGTT-a plato najviše vrijednosti produljen i normalizacija usporena (246). Nakon intravenskog davanja glukoza sporije nestaje iz krvi. Glukoza na tašte u zdravih trudnica pada na vrijednosti 3,3 do 3,9 mmol/L. Sniženje iznosi 10-20%, a nastaje zbog poboljšane utilizacije glukoze te potrebe fetusa, uterusa i placente. Vrijednosti glukoze nakon jela u trudnica se povećavaju od 7,2 na 7,8 mmol/L, što je posljedica antiinzulinskih hormona. Trudnice s gestacijskim dijabetesom imaju postprandijalnu glikemiju od 8,3 do 8,9 mmol/L zbog djelovanja placentnih anti-inzulinskih hormona, inzulinske rezistencije i zakašnjele sekrecije inzulina na nutritivne stimulanse (246). U zdravih trudnica srednja vrijednost dnevnog profila glukoze iznosi između 5,0 do 5,6 mmol/L, kao i u negravidnih žena. Niže su vrijednosti na tašte i više vrijednosti nakon jela u zdravih trudnica. U trudnica s gestacijskim dijabetesom srednja vrijednost glukoze iznosi oko 5,6 mmol/L ili više. Tolerancija glukoze se u ranoj trudnoći poboljšava zbog utjecaja humanog korionskog gonadotropina (hCG). Nakon

dvadesetog tjedna zbog utjecaja antiinzulinskih hormona tolerancija se glukoze progresivno smanjuje. U zdravih trudnica sekrecija inzulina se povećava. Vrijednosti inzulina su u zdrave trudnice prije jela povišene, to više što je viša gestacijska dob.

Djelotvornost inzulina se u trećem tromjesečju trudnoće smanjuje za 50 do 70%, što je evidentan dokaz povećanja inzulinske rezistencije u zdravih trudnica (247,220,225). Metabolizam ugljikohidrata je vrlo kompleksan i još uvijek nedovoljno istražen. U početku trudnoće inzulin uobičajeno snizuje koncentraciju glukoze u krvi, a u uznapredovaloj trudnoći stvorene povećane količine inzulina imaju ograničeni učinak na koncentraciju glukoze u krvi: u organizmu se stvara rezistencija na inzulin, koja pogoršava manifestni dijabetes i uzrokuje gestacijski dijabetes. U zdravih trudnica ne dolazi samo do promjena metabolizma ugljikohidrata, već i do promjena metabolizma masti i aminokiselina (247). Nakon jela zbog antilipolitičkog djelovanja inzulina ne oslobađaju se masne kiseline iz masnog tkiva, ali su razine slobodnih masnih kiselina više nego u negravidnih žena. Stimulacija lipolize nastaje nakon 3-4 sata od uzimanja hrane zbog pada razine inzulina, pa dolazi do znatnijeg povišenja slobodnih masnih kiselina u krvi majke. Porast vrijednosti triacilglicerola (TAG) iznosi 1,5 do 2 puta u trećem tromjesečju u odnosu na vrijeme prije trudnoće (248). To značajno povišenje razine triacilglicerola (TAG) nastaje zbog povećanog stvaranja triacilglicerola (TAG) u jetri, povećanog unosa hrane i smanjene aktivnosti lipoproteinske lipaze (LPL) (248). Nasuprot povišenju koncentracije glukoze i slobodnih masnih kiselina (SMK/FFA), većina aminokiselina se tijekom trunoće smanjuje, kako nakon jela tako i na tašte, što je posljedica hiperinzulinemije majke (226). Trudnice s šećernom bolesti tipa 1 nemaju endogenog inzulina i zbog toga im treba davati inzulin radi regulacije glikemije i sprječavanje ketoacidoze.

Potrebe za inzulinom se povećavaju ponekad i dva do tri puta, zbog čega su nužne česte kontrole glikemije i povećanje doze inzulina. Koncentracija glukoze, masnih kiselina, ketona, triacilglicerola i nekih aminokiselina u cirkulaciji majke se povećava. Cilj liječenja je dati dovoljno inzulina da bi se normalizirao metabolizam u dijabetičarki i na taj način eliminirao nepovoljni utjecaj dijabetesa na rast i razvoj embrija i fetusa (249,250). U trudnica s šećernom bolesti tipa 2 dolazi, do još izraženijeg utjecaja inzulinske rezistencije na regulaciju glikemije. Zbog toga je takvim

trudnicama potrebna znakovito veća doza inzulina nego trudnicama s tipom 1 šećerne bolesti. Najvažnije metaboličke promjene u trudnoći su nastanak progresivne inzulinske rezistencije, ubrzan katabolizam masti i hipoglikemije za vrijeme gladovanja. Tijekom trudnoće u metabolizmu proteina dolazi do znakovitih promjena u sintezi, koncentraciji i denaturaciji proteina. Već poslije 12.-og tjedna gestacije koncentracija ukupnih proteina u plazmi je manja za 15-20% od koncentracije proteina u negravidnih žena. U normalnoj trudnoći koncentracija ukupnih proteina održava se na razini iznad 60 g/L. Pad razine proteina nije isti za sve frakcije proteina plazme. Koncentracija albumina je znakovito niža (oko 35%), dok se koncentracija imunoglobulina mijenja minimalno.

Estrogenskom stimulacijom dolazi do blagog povećanja sinteze α-globulina i β-globulina; dolazi do znakovitog porasta fibrinogena (i do 50%) i drugih proteinskih faktora koagulacije i ceruloplazmina. U III trimestru trudnoće raste i koncentracija transferina. Pad koncentracije ukupnih proteina i albumina je rezultat povećanja cirkulatornog volumena i relativne dilucije, ali i neravnoteže između sinteze i razgradnje proteina. Zbog navedenih promjena dolazi i do smanjenja koloidno-osmotskog tlaka plazme. Tijekom trudnoće povećana je koagulabilnost krvi zbog promjena u koagulacijskom i fibrinolitičkom sustavu. Ukupni lipidi (kolesterol, fosfolipidi, triacilgliceroli) su dva puta veći krajem trudnoće u odnosu na negravidno stanje. Dolazi do progresivnog porasta serumskih triacilglicerola, što je rezultat inhibicijskog djelovanja postheparin-esteraze (PHE) i lipoproteinske-lipaze (LPL). Kolesterol raste za 30-60%, ukupni fosfolipidi postupno rastu od 25-50%. Frakcije lecitin, cefalin i sfingomijelin rastu, dok se izoleucin smanjuje za 50% u odnosu na negravidno stanje.

1.11.1. Manjak inzulina u diabetes mellitusu

Dijabetes melitus je kronični sindrom u kojem je prisutna kompleksna interreakcija nasljednih faktora i faktora okoline na djelovanje inzulina. Nastaje zbog smanjenog izlučivanja inzulina i/ili smanjene inzulinske osjetljivosti (insulin resistance–otpornost inzulina) u ciljnim tkivima. Kod pacijentica s tipom 1 šećerne bolesti složena povezanost genetskih, egzogenih i autoimunih faktora dovodi do selektivnog uništavanja β-stanica gušterače, te kompromitira izlučivanje inzulina. Tip 2 šećerne bolesti ima manje izražen nedostatak inzulina.

1.11.2. Izlučivanje inzulina

Nedostatak inzulina može varirati od djelomičnog nedostatka inzulina (povećane potrebe, starenje, stres, bolest, trudnoća), do potpunog nedostatka inzulina. Pacijentice s tipom 1 šećerne bolesti, mogu do određenog stupnja proizvoditi endogeni inzulin, premda se izlučivanje postupno gubi, jer je funkcija β-stanica selektivno uništena (251). Pacijentice s tipom 2 šećerne bolesti obično imaju manje oštećeno, odnosno kompromitirano izlučivanje inzulina. Razine glikemije kod takvih pacijentica, već uz dijetu mogu biti normalne ili čak nešto više. Kod blažih slučajeva šećerne bolesti tipa 2 (razina glukoze u plazmi kod gladovanja >126mg/dL) često dolazi do selektivnog pogoršanja prve faze inzulinske reakcije. U takvim slučajevima manjak inzulina je mnogo manje izražen za vrijeme uzimanja miješane hrane u usporedbi s razinom inzulina za vrijeme uzimanja čistog šećera (252). Izvješća Yalowa i Bersona (253) naglašavaju prisutnu hiperinzulinemiju, kod pacijentica s tipom 2 šećerne bolesti. Više od 80% do 85% pacijenata s tipom 2 šećerne bolesti su adipoznije građe. Poznato je, da je debljina *per se* praćena stanjem hiperinzulinemije i povezana je s rezistencijom inzulina na ciljna tkiva (254). Spajanje inzulina s specifičnim receptorskim mjestom na površini stanice pokreće kaskadnu reakciju staničnih procesa, koju nazivamo *postreceptorskim događanjem u stanici*. Ovaj lančani slijed zbivanja može se pokrenuti i kod znakovitih oscilacija prisutnog inzulina. Tip 2 šećerne bolesti osobit je po smanjenoj osjetljivosti na molekule izulina u ciljnim tkivima, te se na taj način limitira metabolički učinak stanice (255). Periferna tkiva, poput skeletnog mišića u stanjima hiperglikemije slabije reagiraju na molekule inzulina, te tako umanjuju metaboličku

aktivnost stanice (256). Drugi inzulinom stimulirani procesi, kao što je inhibicija hepatalne glukoneogeneze, također pokazuje smanjenu osjetljivost prema inzulinu. Istraživanja o poremećenoj funkciji inzulinskih receptora otkrivaju postreceptorska oštećenja, koja imaju znakovitu ulogu u nastanku inzulinske rezistencije (255). Pretpostavlja se, da stanični metaboliti slobodnih masnih kiselina (SMK/FFA) mogu usporiti translokaciju GLUT 4 na površinu stanice (255,256).

1.12. POSTAPSORPCIJSKO STANJE

Nakon uobičajenog noćnog gladovanja većina dijabetičara pokazuje postojanu hiperglikemiju. Pacijenati s jače izraženom hiperglikemijom imati će popratnu glikozuriju i dodatni gubitak energije urinom. Iz takve perspektive dijabetes se može smatrati, kao stanje „ubrzanog gladovanja"; situacija koja nije bitnije drugačija od one, koju možemo zapaziti tijekom normalne trudnoće.

Glukoza. U slučajevima apsolutnog ili relativnog manjka inzulina tijekom noćnog gladovanja dolazi do porasta razine glukoze u krvi. Umjereni porast (100 do 125 mg/dL) glikemije definiramo kao stanje, koje je nastalo uslijed gladovanja, pacijenti imaju povišene razine glukoze što nazivamo *impaired fasting glucose (IFG).* Kad razina glukoze u krvi prelazi iznad 126 mg/dL takvo stanje definiramo kao stanje razvijenog dijabetes melitusa (257). U zdravih osoba i minimalna hiperglikemija je dovoljna, da potpuno zaustavi hepatalnu glukoneogenezu, dok u dijabetičara (ili kod pacijenata s IFG-om) takav učinak izostaje (257). Rezultat takve aktivnosti je relativno ili apsolutno povećana proizvodnja glukoze. Pacijenti s tipom 1 šećerne bolesti i jačim deficitom inzulina mogu dovesti do pojačane hepatalne glukoneogeneze. U takvim okolnostima nedostatak inzulina može rezultirati prekomjernim izlučivanjem glukagona i hormona rasta, te tako dalje održavati pojačanu hepatalnu glukoneogenezu (258).

U slučajevima potpunog nedostatka inzulina dolazi do otpuštanja kontraregulatornih hormona (glukagona, kortizola, hormona rasta i kateholamina), što stimulira ubrzanu hepatalnu glukoneogenezu. Klinička slika ovakvih stanja usporedna

je s prisutnom hiperglikemijom i glikozurijom, što možemo vidjeti u slučajevima dijabetičke ketoacidoze (DKA-diabetic ketoacidosis) ili u stanjima hiperosmolarne hiperglikemije (HHS-hyperosmolar hyperglycemic state) (259).

Aminokiseline. U postapsorpcijskoj fazi dijabetičari s tipom 1 šećerne bolesti imaju povišenu razinu cirkulirajućih aminokiselina. Takva hiperaminoacidemija je rezultat povišenih vrijednosti lanaca razgranatih aminokiselina (BCAA-branched chain amino acid) (260), dok se istovremeno razina cirkulirajućeg alanina smanjuje zbog nedostatka inzulina (261). Novija istraživanja, koja koriste radioaktivne detektore ukazuju na povišene razine BCAA u cirkulaciji, kod pacijenata sa slabo reguliranim dijabetesom tipa 1. Opisane abnormalnosti BCAA metabolizma često izostaju kod dijabetičara s tipom 2 šećerne bolesti. To je vjerojatno zbog toga, što je metabolizam BCAA ovisan o sniženim razinama inzulina (262).

Slobodne masne kiseline. U postapsorpcijskoj fazi dijabetičari s tipom 1 šećerne bolesti imaju povišene razine slobodnih masnih kiselina (SMK/FFA) (263), što se pripisuje djelovanju inzulina. Kod tipa 2 šećerne bolesti porast razine cirkulirajućih SMK/FFA dolazi kod normalne ili povišenih vrijednosti inzulina (263). Povećana dostupnost SMK/FFA dovodi do njihove oksidacije, što dovodi do smanjene oksidacije glukoze (232). Premda se SMK/FFA ne mogu direktno pretvoriti u glukozu, one potiču stanje hiperglikemije, te odlaganje glukoze u skeletni mišić (264). U pacijenata s tipom 2 šećerne bolesti prisutan endogeni inzulin umanjuje ketogene procese u jetri. Kod dijabetičara s tipom 1 šećerne bolesti mobilizirane SMK/FFA jednostavnije se pretvaraju u ketonska tijela. Manjak inzulina u portalnoj cirkulaciji smanjuje sintezu masti u jetri, te tako smanjuje intrahepatalnu razinu malonil-Co-A. Istovremenim povećanjem karnitina ovi procesi stimuliraju aktivnost jetrene acil-karnitin-transferaze, što olakšava prijenos dugačkih lanaca masnih kiselina, koje se u mitohondriju β-oksidacijom pretvaraju u ketonska tijela (221). Tijekom razdoblja gladovanja u dijabetičkih pacijenata dolazi do porasta razine cirkulirajućih lipoproteina. Najizraženiji je porast lipoproteina vrlo niske gustoće (VLDL) (265,266,267).

2. CILJ, HIPOTEZA I SVRHA RADA

2.1. DOSADAŠNJE SPOZNAJE

Dijabetes u trudnoći donosi brojne komplikacije za majku i dijete (268,1,14). Šećerna bolest tipa 1 je kronična autoimuna bolest koja je nastala zbog destrukcije beta stanica pankreasa. Loša metabolička kontrola dijabetičnih trudnica /učestale hiperglikemije/ s velikim dnevnim oscilacijama glukoze je združena s višim perinatalnim mortalitetom i morbiditetom (269,270,271,14,100,145). Posljednjih godina dolazi do znatnog snižavanja perinatalnog mortaliteta, ali je još uvijek u velikim centrima viši od 5%. Danas se materni mortalitet dijabetičkih trudnica ne razlikuje od opće populacije. Posteljica je složeni organ ograničenog vijeka trajanja, koji traje koliko i sama trudnoća. Funkcija posteljice je višestruka. Zahvaljujući svom položaju posteljica je izložena regulacijskim utjecajima i od strane majke i od strane fetusa i može se očekivati da će poremećaji u majčinoj i fetalnoj cirkulaciji imati na neki način utjecaja na strukturu i funkciju posteljice. Takvi poremećaji uključuju hiperglikemiju, povišenu ili sniženu koncentraciju inzulina, povišene vrijednosti glukokortikoida, nekih lipida i lipoproteina kao i promjene u koncentraciji aminokiselina. Pregled dostupne literature pokazao je značajna neslaganja među dostupnim podacima. Glavni razlog leži u brojnim faktorima koji mogu imati utjecaj na ishod studija. Među njima su najvažniji tip dijabetesa (tip 1, tip 2 i gestacijski dijabetes GDM), kvaliteta glikemičke kontrole (koju mjerimo koncentracijom glikoziliranog hemoglobina A_1c), vrsta terapije (dijeta, inzulin), te etnička pripadnost. Sve te različitosti među studijama ograničavaju mogućnost za razvoj jedinstvene hipoteze dijabetesom uzrokovanih promjena u posteljici.

Posteljica ponajprije ima nutritivnu i respiracijsku ulogu, jer omogućuje izmjenu svih potrebnih hranidbenih sastojaka i kisika između krvotoka majke i krvotoka ploda. Zatim ima ekskrecijsku ulogu, jer sada obrnutim putem omogućuje prijelaz metaboliziranih produkata i ugljičnog dioksida iz krvotoka djeteta u krvotok majke, koji se iz organizma majke izlučuju zajedno i na isti način kao raspadni produkti

u organizam majke. Slijedeća bitna funkcija je sposobnost izlučivanja endokrinih hormona, koji su prijeko potrebni za održavanje trudnoće. Osim navedenog ima i protektivni učinak jer prječi prodor većine mikroorganizama iz krvotoka majke u krvotok djeteta. Posteljica je organ koji ima središnju metaboličku ulogu u trudnoći. Sintezom hormona regulira transport hranjivih sastojaka od majke prema fetusu i omogućuje bolju adaptaciju u pojedinim fazama trudnoće. Struktura posteljice ostaje u većini slučajeva netaknuta, kod dijabetičkih trudnica, osim u slučajevima loše regulirane glikemije.

Razina glikemije krajem trudnoće, kod trudnica s loše reguliranim glikemijama i tipom 1 šećerne bolesti je znakovito viša, nego u zdravih trudnica. Utjecaj šećerne bolesti u trudnoći dovodi do povećanja ukupne mase posteljičnog tkiva, placentarnog DNA, glikogena i lipida (272). Istraživanje koncentracije lipida u posteljicama trudnica s gestacijskim dijabetesom otkrilo je porast koncentracije nekih masnih kiselina (273,120). Mogu li se slične promjene naći u posteljicama zdravih trudnica ili posteljicama trudnica s tipom 1 šećerne bolesti ostaje nepoznanica. Strukturne promjene posteljice u dijabetičnih trudnica mogle bi biti odraz adaptacijskih promjena u posteljici (274). Difuzijska udaljenost je također povećana. Bazalna membrana trofoblasta je zadebljana kao rezultat povećanog odlaganja kolagena. Nasuprot tome bazalna kapilarna membrana endotelnih stanica je kod dijabetesa tanja. Smanjena difuzijska sposobnost posteljice može uzrokovati hipoksiju fetusa, koja se često viđa u dijabetičkih trudnica.

U zdravih žena bez dijabetičkog obiteljskog opterećenja i bez anamnestičkih znakova sumnjivih na dijabetes intravenski i peroralni GTT mijenja se napredovanjem trudnoće. Vrijednosti nisu patološke i ostaju u granici normale. Napredovanjem trudnoće sekrecija inzulina se povećava. Djelotvornost inzulina se u trećem tromjesečju trudnoće smanjuje za 50%-70% što je evidentan dokaz povećanja inzulinske rezistencije. Inzulinska rezistencija se povećava rastom fetoplacentne jedinice i razine placentarnih hormona (HPL, progesteron, kortizol i dr.) U trudnoći je poznata lokalna inhibicija inzulinskog djelovanja na razini stanice zbog djelovanja antagonista inzulina (275). Lučenje glukokortikoida u trudnoći se povećava. Povišena djelatnost glukokortikoida djeluje u smislu povećanja glukoneogeneze i inhibicije

oksidacije glukoze u stanici. Izlučivanje humanog placentarnog laktogena je znatno povišeno. Njegovo je djelovanje slično ili jednako djelovanju hormona rasta: djeluje anabolički na proteine, smanjuje oksidaciju glukoze u stanici, a na masno tkivo djeluje lipolitički. Zbog relativnog ili apsolutnog manjka inzulina u trudnica s dijabetesom dolazi do metaboličkih poremećaja u fetoplacentnoj jedinici. Koncentracija glukoze, masnih kiselina, ketona, triacilglicerola, kao i nekih aminokiselina u cirkulaciji majke se povećava. Cilj liječenja je dati dovoljno inzulina da bi se normalizirao metabolizam u dijabetičarki i na taj način eliminirao nepovoljni utjecaj dijabetesa na rast i razvoj embrija i fetusa (276,14,45,154).

Najvažnije metaboličke promjene u trudnoći su nastanak progresivne inzulinske rezistencije, ubrzan katabolizam masti i hipoglikemije za vrijeme gladovanja. Dobrom regulacijom glikemije u trudnica s tipom 1 šećerne bolesti smanjit će se razina ketona, slobodnih masnih kiselina, triacilglicerola i aminokiselina. Morfologija posteljice nije jedina odrednica izmjene i transporta hranjivih tvari između majke i fetusa (277,7).

Za transport ovisan o difuziji kao što je transport plinova važnu ulogu ima i koncentracijski gradijent između majke i fetusa kao i protok krvi kroz majčinu i fetalnu stranu posteljice. Transport masnih kiselina prema fetusu mijenja se u ovisnosti o koncentraciji masnih kiselina kod majke. Trudnice s tipom 1 šećerne bolesti imaju više koncentracije slobodnih masnih kiselina (SMK/FFA). Promjene i porast koncentracije maternalnih lipida u trudnica s tipom 1 šećerne bolesti, kod loše reguliranih glikemija, usporedno prati i porast koncentracije triacilglicerola (TAG) i fosfolipida (PL) u posteljici. Posteljice trudnica s tipom 1 šećerne bolesti i loše reguliranom glikemijom pokazuju određene morfološke promjene u smislu povećanja, zadebljanja i pletoričnog izgleda uslijed fetalne hipervolemije i majčine hiperglikemije (278). Histološke osobine posteljica u trudnica s tipm 1 šećerne bolesti i loše reguliranim glikemijama pokazuju određene specifičnosti; veći dio posteljičnih resica pokazuje disocijaciju zrenja (58) (žarišta nezrelih resica), resice su često edematozne i hipervaskularne te umnožene sa zastojnim promjenama i dilatacijama (radi se o promjeni nazvanoj korangioza/chorangiosis), obložni citotrofoblast često je upadljiv, a bazalna membrana pokazuje žarišno ili difuzno zadebljanje iz čega je jasno da je kod dijabetesa trofoblast oštećen o čemu svjedoči i nekroza sinciciotrofoblasta (279,280,281,58). Vrijednosti

glikemije krajem trudnoće u trudnica s tipom 1 šećerne bolesti imaju veću tendenciju odstupanja od stanja normoglikemije, pa se u loše reguliranih dijabetičarki može očekivati djelovanje hiperglikemije na posteljično tkivo (veća težina posteljice), DNA (placentarni DNA), na povećano odlaganje glikogena (placentarni glikogen) i na lipide posteljice, pa u slučajevima loše reguliranih glikemija može doći do značajnog porasta placentarnih frakcija lipida (282,280,281,). Stoga, posteljice dijabetičkih trudnica, koje su izložene djelovanju sve većih koncentracija albumina i slobodnih masnih kiselina mogu rezultirati i promjenama lokalnog metabolizma (283,284,280,281). Pretpostavlja se da će sadržaj lipida u posteljicama trudnica s tipom 1 šećerne bolesti i dobro reguliranim glikemijama imati manje utjecaja na sadržaj lipida posteljice. Količina lipida posteljice je relativno mala zbog čega je posteljica vrlo malo uključena u metabolizam lipida. Slobodne masne kiseline (SMK/FFA) iz majčine cirkulacije mogu se jednim dijelom transportirati u smjeru fetusa. Za takav znakoviti prijenos slobodnih masnih kiselina (SMK/FFA) zaslužna je posteljica.

2.2. CILJ RADA, HIPOTEZA I SVRHA RADA

Cilj rada je istražiti razlike u sadržaju masnih kiselina u pojedinim skupinama lipida (fosfolipidi-PL, triacilgliceroli-TAG, slobodne masne kiseline-SMK i kolesterol-esteri-CE) u uzorcima posteljica trudnica s tipom 1 šećerne bolesti i usporediti ih s uzorcima posteljica zdravih trudnica.

Hipoteza disertacije je pretpostavka, da će sadržaj lipida biti u direktnoj i znakovitoj korelaciji s načinom regulacije glikemije u trudnica s tipom 1 šećerne bolesti, što će se istovremeno odraziti i na sadržaj lipida u posteljičnom tkivu. Dobro regulirane glikemije s intenziviranom terapijom inzulinom i dijabetičkom dijetom, te redovitim hospitalizacijama takvih trudnica pozitivno će se odraziti na metabolizam lipida. S obzirom da u do sada objavljenim radovima nema provedenih istraživanja niti podataka o sadržaju lipida posteljice u trudnica s intenziviranom terapijom inzulinom i dobro reguliranim oblicima tipa 1 šećerne bolesti, te da u do sada provedenim istraživanjima nije istražena razlika u koncentraciji lipida posteljice trudnica s tipom 1 šećerne bolesti i zdravih trudnica, cilj je istražiti utjecaje poremećaja glikemije

/hiperglikemije/, te utjecaj dobro reguliranih oblika tipa 1 šećerne bolesti na sadržaj lipida u posteljicama takvih trudnica. Utjecaj dobro reguliranih glikemija u trudnica s tipom 1 šećerne bolesti rezultirati će specifičnim promjenama u sadržaju lipida posteljice dijabetičkih trudnica. Promjene odnosno porast koncentracije glikogena i lipida krajem trudnoće u posteljici trudnica s tipom 1 šećerne bolesti mogu se odraziti i na promjene u posteljici. Osim navedenog, još su ostali ciljevi istraživanja:

1.) Istražiti kvantitativnu zastupljenost ukupnih lipida u mikrogramima na 1 gram vlažnog posteljičnog tkiva (µg/g), u uzorcima posteljica trudnica s tipom 1 šećerne bolesti i kontrolne skupine trudnica.
2.) Istražiti zastupljenost svake pojedine skupine lipida (fosfolipidi-PL, triacilgliceroli-TAG, slobodne masne kiseline-SMK/FFA i kolesterol-esteri-CE/EC) u mikrogramima na 1 gram vlažnog posteljičnog tkiva (µg/g), te udio pojedinih skupina lipida izražen u postotku (%), u odnosu na ukupne lipide u uzorcima posteljica trudnica s tipom 1 šećerne bolesti i uzorcima kontrolne skupine trudnica.
3.) Istražiti kvantitativnu zastupljenost svake pojedine masne kiseline u ukupnim lipidima izražen u mikrogramima na 1 gram vlažnog posteljičnog tkiva (µg/g), te udio pojedinih masnih kiselina izražen u postotku (%).
4.) Istražiti kvantitativnu zastupljenost pojedinih masnih kiselina u svakoj skupini lipida izražen u mikrogramima na 1 gram vlažnog posteljičnog tkiva (µg/g), te udio pojedinih masnih kiselina izražen u postotku (%).
5.) Istražiti udio (%) svake pojedine masne kiseline, prema određivanim skupinama lipida.
6.) Istražiti i usporediti antropometrijske podatke istraživane i kontrolne skupine trudnica.

Poremećaj glikemije i loše regulirani oblici šećerne bolesti u dijabetičkih trudnica, mogu inducirati čitav niz komplikacija, kako kod embrija, kasnije fetusa, ali i same trudnice. Dijabetesom inducirane promjene odražavaju se i na posteljično tkivo, te na metabolizam lipida u posteljici. Svrha ovog rada je utvrditi na koji način poremećaj metabolizma ugljikohidrata, a na koji način dobro regulirana glikemija u trudnica s tipom 1 šećerne bolesti može utjecati na sadržaj lipida posteljice.

3. MATERIJALI I METODE ISTRAŽIVANJA

3.1. PRIKUPLJANJE UZORAKA

Slika br. 1



U Klinici za ženske bolesti i porode KBC-a Zagreb, na Odjelu za dijabetes i fetalni rast (odjel patologije trudnoće 1) djeluje Referentni centar za dijabetes u trudnoći /RCZDT/ Ministarstva zdravstva i socijalne skrbi RH, gdje se nadziru i liječe trudnice dijabetičarke. Tijekom jednogodišnjeg razdoblja, kroz RCZDT prođe do 70-ak dijabetičnih trudnica s tipom 1 šećerne bolesti. Za ovaj rad korištene su dvije skupine trudnica. Jednu skupinu predstavljala je istraživana skupina od 38 dijabetičnih trudnica s tipom 1 šećerne bolesti, dok je drugu kontrolnu skupinu predstavljao uzorak od 34 zdrave trudnice. U svih trudnica su uzeti opći podaci, podaci o prvom danu posljednje menstruacije, a trudnoća je dokazana određivanjem vrijednosti β-HCG-a unutar 14 dana od izostale menstruacije. S obzirom na vrlo veliku osjetljivost i specifičnost ovog testa, ovim smo testom potvrdili trudnoću. Nakon dokazivanja trudnoće trudnice su zaprimljene u RCZDT više puta tijekom trudnoće, radi kliničkog nadzora, UZV pregleda i laboratorijske obrade. Serijskim je određivanjem β-HCG-a utvrđeno, da li se radilo o normalnoj ili poremećenoj trudnoći. U daljnjem je postupku, ultrazvučnom metodom potvrđena intrauterina trudnoća, te dva puta između 8. i 12. tjedna učinjena biometrija. UZV dijagnostika i nadzor trudnica istraživane i kontrolne skupine učinjena je na aparatu GE Voluson 730® (slika br. 1) Ultrasound System, proizvođač: „National Ultrasound Inc., 2730 N Berkeley Lake Rd., Suite B-400 Duluth, Georgia, USA". Istraživana skupina trudnica intenzivno je nadzirana klinički, laboratorijski i UZV-om tijekom cijele trudnoće. Tijekom embrionalnog razvoja praćen je rast udaljenosti tjeme-trtica (CRL - crown rump length), a kasnije je praćena fetalna biometrija. Upravo rana mjerenja udaljenosti CRL-a predstavljala su najtočniju procjenu gestacije trudnoće. Vrijednosti CRL-a uspoređivane su sa ranijim standardima (Robinson H, Fleming J. A critical evaluation

of sonar crown rump lenght measurements. Br J Obstet and Gynecol 1975; 82: 702-705.) (285). Za određivanje vrijednosti β-HCG-a korišten je radioimunološki test, s kojim se određuje beta lanac ljudskog korionskog gonadotropina, a koji zbog svoje velike osjetljivosti i specifičnosti nema lažno negativnih, niti lažno pozitivnih rezultata. Beta-HCG je određen imunoenzimetričkim esejem (IEMA-code: 10331504) "SERONO HCG SEROZYME", pripravak se koristi za kvantitativno određivanje ljudskog-korio-gonadotropina u humanom serumu ili plazmi, ali i za kvalitativno određivanje ljudskog-korio-gonadotropina u urinu. Standarde je kalibrirao "WHO" (1st INTERNATIONAL REFERENCE PREPARATION - IRP for human HCG, 75/537).

Za određivanje vrijednosti glukoze korištena je metoda "Trinder-Herbos dijagnostike", određivanje glukoze u uzorku kapilarne krvi (serum, heparinizirana plazma, likvor), tzv. kolorenzimska-PAP-metoda TR 2001, upotrebom fenola i 4-aminofenazona (286). Određivana je srednja vrijednost prvog jutarnjeg nivoa GUK-a natašte; srednja vrijednost prvog postprandijalnog nivoa GUK-a; srednja vrijednost, svih srednjih vrijednosti velikih profila GUK-a, što je uspoređeno sa vrijednostima HbA1c. Vrijednosti HbA1c su određivane pomoću eseja za kvantitativno mjerenje postotka glikoziliranog hemoglobina u humanoj nekoaguliranoj punoj krvi, elektroforetskom metodom na ionskom izmjenjivaču - "Imx glycated hemoglobin assay", proizvod "Abbot Laboratories-Diagnostics Division, Abbott park, IL. 60064". Proizvod je licenciran kao U.S. patent br. 4,269,605.

Osim navedenog u obradu su uzeti i drugi podaci, kao što su podaci o pušenju, uživanju alkohola, drogi, infekcijama, traumi, utjecaju zračenja i utjecaju kemijskih spojeva, te drugim osobitostima tijekom trudnoće. Svim trudnicama istraživane skupine određeno je točno trajanje osnovne bolesti (tip 1 šećerna bolest) i lipidogram tijekom trećeg trimestra trudnoće. Kvaliteta regulacije glikemije kontrolirala se određivanjem glikoziliranog hemoglobina A_1c / HbA_1c. Trudnice su dolazile na redovite kontrolne boravke u RCZDT. Točna procjena gestacije određena je usporedbom prvog dana posljednje menstruacije i kliničke procjene trudnoće, koja je uspoređena s UZV nalazom. Usporedba i procjena dinamike rasta i razvoja trudnoće pratila se UZV embriometrijom, a tijekom kasnijeg razvoja fetometrijom. Dijete je hipertrofično, ako je preko 90-e centile za dob, hipotrofično dijete je ono ispod 10-e

centile za dob (Dražančić A, Pevec-Stupar R, Kern J. Rast fetusa u Zagrebu. Jugoslav Ginekol Perinatol 1988;28:13-20.).

3.2. UZORCI

Sve trudnoće, istraživane i kontrolne skupine trudnica dovršene su carskim rezom u terminu, nakon procjene fetalne zrelosti i postavljene indikacije za carski rez. Prikupljeni su uzorci posteljičnog tkiva iz centralnog dijela posteljica istraživane i kontrolne skupine trudnica, te je analiziran sadržaj pojedinih frakcija lipida u posteljičnom tkivu. S uzoraka posteljičnog tkiva (s kotiledona) prvo je skalpelom odstranjena decidua. Od multiplih kotiledona odvojeno je tkivo resica. Tako pripremljeno posteljično tkivo, bez decidue i krvnih žila koristilo se za određivanje koncentracije masnih kiselina. Prikupljeni uzorci ispirani su neposredno poslije učinjenog carskog reza hladnom Ringerovom otopinom temperature ≤4°C. Rezanjem se s površine kotiledona odvojila decidua i tako ekstrahirano tkivo viloznih prostora očišćeno od krvnih žila pripremilo se, kao usitnjeni komadići posteljičnog tkiva za daljnji postupak. Tako pripremljeno tkivo isprano je, još četiri puta u pothlađenoj Ringerovoj otopini, da se u cijelosti očisti od retinirane krvi, te je nakon toga pohranjeno u hladnjak Sanyo MDF-192 proizvođač: „Sanyo Electric Biomedical Co., Ltd., Osaka, Japan“ na -75°C. Tako pripremljeni uzorci ostali su u hladnjaku, do postupka ekstrakcije lipida.

3.3. METODE ISTRAŽIVANJA

3.3.1. Homogenizacija i liofilizacija uzoraka



Slika br. 2

Priprema uzoraka za određivanje sadržaja lipida u posteljičnom tkivu provedena je prema točno određenoj metodi za pripremu uzoraka. Nakon uzimanja uzoraka iz hladnjaka i postupka odleđivanja na sobnoj temperaturi pripremljeno posteljično tkivo je korišteno za postupak ekstrakcije lipida, za određivanje koncentracije

masnih kiselina, proveden je metodom prema Folch-u (287). Tkivo posteljice se stavljalo u prethodno izvagane epruvete. U epruvetama se odredila točna masa vlažnog tkiva, a potom se uz dodatak 1 mL destilirane vode uzorak, još jednom mješalicom usitnio/homogenizirao u Potter-Elvehjem homogenizatoru. Ekstrakcija lipida je učinjena primjenom smjese kloroforma : metanola u različitim omjerima. Ekstrakcija se provodila s različitim smjesama otapala (smjesa otopine kloroforma i metanola $CHCl_3$:MeOH u omjeru 2:1 dva puta po 10 mL; smjese otopine kloroforma i metanola $CHCl_3$:MeOH u omjeru 1:1 jedan puta po 10 mL; te smjesa otopine kloroforma i metanola $CHCl_3$:MeOH u omjeru 1:2 dva puta po 10 mL), kako bi polarni i nepolarni lipidi prešli u otapalo. Nepolarno otapalo $CHCl_3$ (kloroform) ekstrahiralo je nepolarne lipide, dok polarnije otapalo MeOH (metanol) ekstrahiralo polarne lipide. Nakon svakog postupka dodavanja otapala uzorak je postavljen na mućkanje tijekom 30 minuta, nakon čega se filtrirao i u homogenat dodalo novih 10 mL otapala. Nakon posljednje ekstrakcije uzorak se ostavio preko noći djelovanju Na_2SO_4, koji je na sebe vezao ostatke vode iz otapala.

Slijedeći dan uzorak je filtriran u prethodno izvaganu epruvetu, te je slijedilo uparavanje otapala u Büchijevom uparivaču (slika br. 2), proizvod: „LabX, ON, Canada“ uparavanjem, do suhog uzorka, uz snižen tlak. Ako je u uzorku nakon uparavanja ostalo rezidualnog tkiva uzorak se ponovno otapao u određenom volumenu (1mL) smjese otapala kloroforma i metanola $CHCl_3$:MeOH u omjeru 2:1, potom centrifugirao, a supernatant dekantirao, te na kraju ponovno na uparivaču uparavao do suhoga. Takav sadržaj epruvete se vagao i tako se odredila masa ukupnih lipida. Za određivanje točnog udjela ukupnih lipida korištena je heptadekanska kiselina C 17:0, kao interni standard.

Uzorak/iscrpak je ponovno otopljen u točno 200 µL smjese otopine kloroforma i metanola $CHCl_3$:MeOH u omjeru 2:1. Odvojeno je točno 20 µL za određivanje ukupnih lipida, te je tako precizno određen udio masnih kiselina u ekstraktu ukupnih lipida. U spomenutih 20 µL dodano je 20 µL heptadekanske kiseline C 17:0 (margarinska kiselina otopljena u heksanu, 25 mg C_{17}/25 mL heksana), kao interni standard, nakon čega je slijedio postupak transesterifikacije (metanoliza). Heptadekanska kiselina C 17:0 dodaje se kao interni standard, zbog određivanja udjela

pojedinih masnih kiselina u frakcijama fosfolipida (PL), slobodnih masnih kiselina (SMK/FFA), triacilglicerola (TAG) i estera-kolesterola (CE/EC). Ostatak je nanošen na preparativnu staklenu ploču za tankoslojnu kromatografiju.

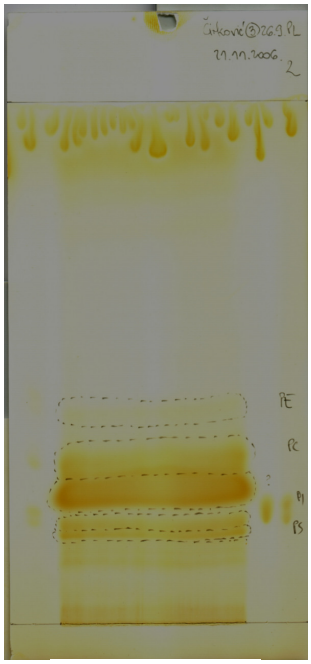
3.3.2. Tankoslojna kromatografija TLC – *Thin Layer Chromatography* i plinska kromatografija GC - *Gas Chromatography*

Postupak razdvajanja frakcija lipida proveden je metodom tankoslojne kromatografije **TLC** – *Thin Layer Chromatography*, dok je postupak određivanja sadržaja lipida proveden metodom plinske kromatografije **GC** - *Gas Chromatography*, nakon postupka pripreme uzoraka. Kromatografija je fizikalno-kemijska metoda koja se primjenjuje za kvalitativnu i kvantitativnu analizu smjese kemijskih spojeva na principu diferencijalne migracije. Osniva se na različitoj moći adsorpcije čistih tvari iz otopine ili plinske smjese na sitnim česticama čvrstih tvari (adsorbens), kao što su gel, silikatne kiseline i aluminij-hidroksid. Kada se adsorbens nalazi kao tanak sloj na staklenoj ploči metoda se naziva tankoslojnom kromatografijom. Kada se adsorpcija provodi u koloni iz smjese čistih tvari u stanju plina metoda se naziva plinskom kromatografijom. Inertni plin služi kao otapalo. Ove dvije metode korištene su analizi sadržaja lipida u uzorcima posteljica. Kromatografija je dobila ime po grčkoj riječi *chroma*, što znači boja, jer su prva razdvajanja izvedena iz smjese obojenih tvari (288). Otkrivačem kromatografije smatra se ruski botaničar M.S. Cvet (1906), a najviše zasluga za razvoj modernih kromatografskih metoda imaju engleski nobelovci A.J.P. Martin i J.M. Synge (1944) (289). Kromatografske metode klasificiraju se prema otporu koji u različitoj mjeri usporava kretanje pojedinih supstancija i s time vrši njihovo rastavljanje (289). Prema tome se razlikuje adsorptivna i raspodjelna kromatografija sa specijalnom primjenom, kod kromatografije na papiru, odnosno staklenim pločama; kromatografija plinovima; zatim kromatografija na ionskim izmjenjivačima i elektrokromatografija (289). Plinska kromatografija s obzirom na relativno jednostavnu tehniku široko se primjenjuje u medicini kao analitička metoda za određivanje različitih spojeva, te je spomenuta metoda korištena u ovoj disertaciji za određivanje sadržaja lipida u hidrolizatima tkiva posteljice. TLC *Thin Layer*

Chromatography se temelji na različitoj brzini putovanja lipidnih frakcija nošenih smjesom otapala (mobilna faza) preko staklene ploče (stacionarna faza) impregnirane silica gelom, kao adsorbensom (289,288). Kod ove metode tanki sloj adsorbensa (silica gel) već je nanešen na staklenu ploču; inače se može pripremiti tako da se razmute dva dijela vode i silica gel, te se dobivena kaša nanese na staklenu ploču, da se dobije odgovarajući sloj debljine 0,25 mm. Sloj se aktivira sušenjem u termostatu kod 110^{o}C. Razlika u brzini putovanja se javlja zbog različitih svojstava (različita polarnost) lipida. GC *Gas Chromatography* koristi kao nosač za mobilnu fazu inertni plin, koji razdvaja metilne estere masnih kiselina (FAME) iz uzorka, pod određenim tlakom i temperaturom (290,291). Za tankoslojnu kromatografiju koristile su se staklene ploče veličine 10 x 20 cm (Merck KgaA, Darmstadt, Germany), (slika br. 3) impregnirane tankim slojem adsorbensa (0,25 mm) silica gela (stacionarna faza), silicijevom kiselinom. Kao razvijač odnosno kupelj koristila se smjesa petrol-etera:dietiletera:octene kiseline u omjeru 80:20:1, uz sandarde CE (kolesterol-ester), CH (kolesterol), TAG/TG (triacilglicerol/triglicerid), SMK/FFA (slobodne masne kiseline).

Takoslojna kromatografija (TLC - thin layer chromatography) je metoda koja se koristi za razdvajanje lipidnih frakcija iz smjese na temelju njihovog različitog polariteta. Uzorak se nanosi kapilarom na liniju starta, što je 1,2 cm od donjeg ruba ploče prekrivene tzv. silikagel-om (silicijevom kiselinom). Pored uzorka na ploču su nanešeni standardi, kako bi se pojedine frakcije mogle identificirati. Nakon sušenja nanesenih uzoraka i standarda (oko 15-tak minuta) ploča je stavljena u kupelj u kojoj se nalazila smjesa otapala (mobilna faza). Kupelj se prije stavljanja ploče zasitila parama otapala tijekom 60 minuta. Za razdvajanje nepolarnih lipida koristila se nepolarna mobilna faza, smjesa otapala petrol-eter:dietileter:octena kiselina u omjeru 80:20:1; dok je za razdvajanje polarnih lipida korištena polarna mobilna faza sa smjesom otapala u tzv. Wagnerovoj kupelji, kloroform:metanol:NH_4OH (2M otopina, 150 mL 25% NH_4OH nadopunjen je do 1 L s destiliranom vodom) u omjeru 65:25:4. Otapalo koje natapa staklenu ploču nosi uzorak prema suprotnom rubu ploče. Različite komponente prelaze različite udaljenosti. Staklena ploča je uronjena gotovo okomito, tako da joj je početak odnosno linija starta izvan otapala. Zbog različite topljivosti u

mobilnoj fazi, kada je ploča stavljena u kupelj mobilna je faza zbog kapilarnih sila počela putovati različitim brzinama prema vrhu ploče; tako je mobilna faza nosila frakcije pojedinih lipida različitim brzinama prema gornjem kraju ploče. Kada se fronta otapala popela za 16 cm od startne linije ploča se vadila iz kupelji i stavljala na sušenje 10-15 minuta. Kod analize treba uvijek točno utvrditi položaj linije fronte, do koje se popelo čisto otapalo i izračunati R_f vrijednosti (R_f=x/y; x je udaljenost startne linije, y je udaljenost fronte). Metoda je vrlo osjetljiva, brza i omogućuje rad s vrlo malim količinama tvari. Kako bi frakcije pojedinih lipida postale vidljive ploče su postavljene u kupelj zasićenu parama joda. Jod se vezao na dvostruke veze, te se tako javila obojenost uzorka na ploči u obliku smeđih mrlja. Frakcije su identificirane uspoređivanjem sa standardom (brzina putovanja nepoznate frakcije jednaka je brzini putovanja poznatog standarda). Nakon TCL-a sa ploče su sastrugane frakcije CE, TAG/TG, SMK/FFA i CH (slika br. 3) u epruvete za centrifugiranje. S obzirom da su lipidi vezani na silica gel učinjena je ekstrakcija u organskom otapalu, kako bi se uklonio silica gel. U svaku je frakciju dodano po 1 mL kloroforma, te je dodano 20 µL heptadekanske kiseline C 17:0 (margarinska kiselina otpljena u heksanu, 25 mg C_{17}/25 mL heksana) kao interni standard. Sadržaj epruvete je centrifugiran kako bi silica gel bio sedimentiran na dno, a supernatant (organsko otapalo s ekstrahiranim lipidima) dekantiran (s pipetom) u epruvetu za transesterifikaciju (metanolizu). Centrifugiranje je učinjeno tri puta nakon dodavanja 3 mL kloroforma i 20 µL heptadekanske C 17:0 kiseline, kako bi se svi lipidi ekstrahirali sa silica gela, te je otapalo upareno na Rotavaporu (UniEquip) u epruvetama za transesterifikaciju (metanolizu). Uzorci su potom pripremljeni za transesterifikaciju (metanolizu). Postupak s polarnim lipidima bio je slijedeći: startna linija je sastrugana s ploče za TLC, učinjena je ekstrakcija 4 puta s 1 mL smjese kloroforma i metanola $CHCl_3$:MeOH u omjeru 1:2, nakon čega je slijedilo centrifugiranje i dekantiranje u epruvetu. Postupak je identičan kao ranije spomenuta ekstrakcija nepolarnih lipida nakon TLC, ali se razlikuje po



Slika br. 3

primjenjenom otapalu (za polarne lipide koristi se polarnije otapalo, smjesa kloroforma i metanola $CHCl_3$:MeOH u omjeru 1:2). Sadržaj epruvete je uparavan na manji volumen (oko 100 µL), te je potom nanešen na preparativnu ploču za TLC. Tankoslojna kromatografija za razdvajanje polarnih lipida učinjena je u modificiranoj Wagnerovoj kupelji, kloroform:metanol:NH_4OH u omjeru 65:25:4; NH_4OH (2M otopina, 150 mL 25% NH_4OH nadopunjen je do 1 L s destiliranom vodom). Nakon TLC sa ploče su sastrugane frakcije polarnih lipida (PE, PC, PI, PS) u epruvete za centrifugiranje, te je u svaku frakciju dodano po 1 mLsmjese kloroforma i metanola $CHCl_3$:MeOH u omjeru 1:2 i 10 µL heptadekanske kiseline (margarinska kiselina otpljena u heksanu, 25 mg C_{17}/25 mL heksana), te je učinjeno centrifugiranje 3 puta (ukupno je dodano 3 mL smjese kloroforma i metanola $CHCl_3$:MeOH u omjeru 1:2 i 10 µL heptadekanske kiseline C 17:0), nakon čega je slijedio postupak dekantiranja supernatanta u epruvete za metanolizu.

3.3.3. Transesterifikacija/Metanoliza

Transesterifikacija (metanoliza).



Slika br.4

Transesterifikacija je postupak pri kojem masne kiseline prelaze u oblik metilnih estera FAME – Fatty Acid Methyl Ester (292,293). U tom se obliku određuje sastav masnih kiselina metodom plinske kromatografije GC – Gas Chromatography. Pri transesterifikaciji dolazi do kidanja postojećih esterskih veza u frakcijama lipida (CE, TAG/TG, PL) i stvaranja esterskih veza između masnih kiselina iz tih frakcija, kao i SMK/FFA i metanola pri čemu se stvaraju metilni esteri masnih kiselina (FAME) (293). Kod transesterifikacije se na supstancu (alikvot za ukupne lipide) dodaje 2 mL metanolne HCl (8,6 mL conc. HCl i do 100 mL metanola), te se ostavi 5 sati u termostatu na temperaturi od 80^oC. Nakon provedene transesterifikacije uzorci se moraju ohladiti, a potom se radi ekstrakcija FAME-a iz metanolne HCl u organsko otapalo Pe-eter (petrol-eter). Ekstrakcija se provodi u lijevku za odjeljivanje,

dodatkom 5 mL petrol-etera. Donji metanolni sloj se ispušta, a gornji petrol-eterski sakuplja u tikvicu. Metanolni sloj se ekstrahira (ispere) 4 puta, kako FAME ne bi zaostali u metanolnoj HCl. Nakon toga je sadržaj iz tikvice prebačen u isti lijevak i ispran s 5 mL destilirane vode. Donji sloj (voda) se baci, a gornji sloj (Pe-eterski) se prebaci u tikvicu na Na_2SO_4 preko noći, kako bi se uklonila zaostala voda. Drugi dan je sadržaj tikvice filtriran s čime je uklonjen sulfat, a otapalo je upareno. U epruveti su tako ostale samo FAME, tj. metilni esteri masnih kiselina.

Ovaj postupak omogućuje odvajanje metil estera od masnih kiselina sa 8-22 C atoma u lancu. GC se primjenjuje za određivanje fizikalnih osobina spojeva, za preparativnu separaciju, te kvalitativnu i kvantitativnu analizu. Prva ideja o plinskoj kromatografiji stvorena je 1941. godine od istraživača Martina i Synge. James i Martin su još 1952. godine uveli permanentni plin u praktičnu primjenu kao mobilnu fazu u razdjelnoj kromatografiji između plina i tekućine. Difuzija je tu vrlo brza (linearna brzina protoka, cm/s), pa se za takve metode mogu koristiti vrlo dugačke kolone i do 100 m.

Plinska kromatografija je izvedena na kromatografu SRI 8610C GAS CHROMATOGRAPH (slika br. 4)**,** proizvod: „SRI Instruments Chromatography Systems, Torrance, CA, USA“, opremljen softverom Peak Simple za Windows-e. Za plinsku kromatografiju su korištene 30 M Quadrex kolone Cat. No. 007-23-30-0.25F, FSCC/Fused Silica Capillary Column, proizvođač: „Quadrex Corporation, Woodbridge, USA“. Kolone su promjera 0,25 mm impregnirane tankim slojem 78% cyanopropyl-methyl-polysiloxan-om debljine 0,25 μm. Kolone su specifične i idealne za razdvajanje cis/trans izomera metilnih estera masnih kiselina (FAME). U plinu su veće brzine difuzije nego u tekućini, zbog čega je GC djelotvornija od tekućinske kromatografije LC – Liquid Chromatography. U GC je važan utjecaj tlaka plina i temperature. Prilagođeno je vrijeme zadržavanja tzv. retencijsko vrijeme (R_t') i prilagođen je volumen zadržavanja tzv. retencijski volumen (V_R). Osnovno načelo djelovanja je vaporizacija uzorka u glavi kolone, te se na stacionarnoj fazi uzorak izlaže selektivnoj (de)sorpciji uz pomoć plinovite mobilne faze s inertnim plinom H_2. Ulazni tlak plina je između 0,7-3,5 bara. Protok plina kroz kromatografsku kolonu u termostatiranom prostoru mjeri se rotametrom. Termostatirani prostor kromatografske

kolone održava temperaturu u rasponu od nekoliko desetinki ^{o}C. Uzorak se unosi mikrolitarskom štrcaljkom (syringe) u injektor (grijani dio za unošenje) u kromatografsku glavu kolone zagrijane pri ≥50^{o}C preko septuma (gumena ili silikonska membrana). Potrebna je trenutačna vaporizacija.

Prolaskom uzorka kroz kromatografsku kolonu određuje se sastav masnih kiselina, koji se pouzdano očitava na nedestruktivnom detektoru GC-a, koji ima osjetljivost 10^{-8}-10^{-15}g sastojka/mL plina nositelja. Rezultati su preko pojačala vezani za PC registriraju se odazivom detektora kroz faktor vrijeme, te se ispisuju na ekranu s različitim amplitudama (pikovima) u obliku kromatograma, koji predstavljaju vrijednosti registriranih masnih kiselina. Vršna područja mjere se s pomoću elektronskog plameno-ionizacijskog FID detektora (Flame Ionisation Detector), koji se nalazi u plinskom kromatografu, uz temperaturni režim od 150^{o}C prvih 5 minuta, a potom uz porast temperature za 2^{o}C svaku slijedeću minutu do temperature 220^{o}C, uz kontinuirani tlak u koloni od 20 psi-a. Identifikacija metil estera masnih kiselina određuje se usporedbom s poznatim standardom metilnog estera.

3.4. KEMIKALIJE

Otapala čistoće za HPLC ekstrakciju i kromatografiju: a) Kloroform; b) Metanol; c) Petrol-eter; d) Dietil-eter; e) ledena octena kiselina; f) NH_4OH nabavljeni su od proizvođača Riedel-de Haën AG (Seelze, Germany).

Standardi lipida za tankoslojnu i plinsku kromatografiju, kupljeni su kod Sigma Aldrich Chemie GmbH, Steinheim, Germany i heptadekanska kiselina/margarinska kiselina od proizvođača Supelco Inc., Bellefonte, PA.

Ploče za tankoslojnu kromatografiju su proizvod tvornice E. Merck A.B., Darmstadt, Germany.

3.5 STATISTIČKA ANALIZA

Statistička obrada rezultata je provedena pomoću programske podrške paketa SPSS 11.5.0 (Statistical Package for Social Scienses Inc. Headquarters, Chicago, Illinois 60606) i Excel-a za Windows-e, Microsoft Corporation, USA. Rezultati su prikazani tabelarno (Word) i grafički (Excel). S opcijom t-testa programske podrške paketa SPSS 11.5.0 izračunali smo, da li postoji statistička razlika u koncentraciji pojedinih lipida između uzoraka skupine trudnica s tipom 1 šećerne bolesti i uzoraka kontrolne skupine trudnica. Numerički podaci su opisani parametrima deskriptivne statistike: aritmetička sredina, standardna devijacija, medijan, mod, minimalna vrijednost, maksimalna vrijednost, raspon i interkvartilni raspon. T-test je parametrijski test pomoću kojega određujemo postojanje ili nepostajanje statistički značajne razlike između artimetičkih sredina. U našem slučaju, ta aritmetička sredina je srednja vrijednost koncentracije lipida. Postoje tri vrste t-testa (t-test nezavisnih uzoraka, t-test zavisnih uzoraka i t-test, koji računa odstupanje aritmetičke sredine nekog uzorka od neke numeričke konstante). Ako računamo razliku između dvije skupine uzoraka, istraživane i kontrolne skupine trudnica i jedne određene varijable (npr. ukupni fosfolipidi) koristimo t-test nezavisnih uzoraka (independent sample t-test).

Za očitavanje statističke razlike, osim dovoljno velikog uzorka (preporučljivo je da veličina jedne testirane skupine bude veća od 20 uzoraka i da taj broj bude približno podjednak za obje testirane skupine), vrlo je važno da i homogenost varijanci (raspršenje podataka za te dvije skupine na testiranoj varijabli) bude podjednaka. SPSS radi korekciju, ako podaci za istraživanu i kontrolnu skupinu nisu podjednako raspršeni. Ukoliko su varijance homogene možemo očitati statističku razliku iz prvog reda (Sig. 2-tailed). Ukoliko je taj broj veći od 0,05 (95% vjerojatnosti ili nivo rizika 5%) ne postoji statistička razlika između dviju istraživanih skupina. Ukoliko je broj manji <0,05 (npr. 0,014) možemo zaključiti, da postoji statistička značajna razlika između aritmetičkih sredina pojedinih skupina. Nivo rizika možemo pomaknuti i do 1%, što znači, da ako postoji razlika između aritmetičkih sredina dviju skupina, postoji i 99% vjerojatnost, da ćemo u ponovnom istraživanju dobiti iste razlike.

4. REZULTATI

4.1. TABLICE

Tablica 1: Antropometrijski podaci kontrolne i istraživane skupine trudnica

Skupine	**Kontrolna skupina zdravih trudnica / N^o 34** (Srednja vrijednost ± SD)	**Skupina trudnica s tipom 1 DM / N^o 38** (Srednja vrijednost ± SD)	Statistička znakovitost (p)
Dob trudnice (godine)	29,76 ± 4,84	30,00 ± 4,31	t = -0,218 p = 0,828
Tjelesna visina žene (cm)	166,38 ± 6,47	166,00 ± 5,56	t = 0,270 p = 0,788
Tjelesna težina žene (kg)	**83,03 ± 12,01**	**77,20 ± 9,37**	t = 2,310 **p = 0,024***
Prirast tjelesne težine (kg)	**16,71 ± 3,40**	**13,36 ± 4,27**	t = 3,657 **p = 0,000****
Body mass index / BMI	23,94 ± 4,21	23,19 ± 3,72	t = 0,803 p = 0,424
Težina čeda (g)	3616,47 ± 498,77	3639,47 ± 584,80	t = -0,178 p = 0,859
Duljina čeda (cm)	51,00 ± 1,97	50,08 ± 2,51	t = 1,719 p = 0,090
Apgar score 1'	9,53 ± 1,11	9,53 ± 1,01	t = 0,012 p = 0,990
Apgar score 5'	9,85 ± 0,36	9,92 ± 0,27	t = -0,911 p = 0,366
pH krvi pupkovine	7,23 ± 0,05	7,24 ± 0,05	t = -0,306 p = 0,760
Procjena starosti čeda	**39,41 ± 1,10**	**38,82 ± 0,96**	t = 2,456 **p = 0,017***
Težina posteljice (g)	618,24 ± 94,66	652,63 ± 152,01	t = -1,136 p = 0,260

*p<0,05; **p<0,001

U tablici br. 1 su prikazani i uspoređeni demografski podaci istraživane skupine trudnica s tipom 1 šećerne bolesti (N=38) i kontrolne skupine zdravih trudnica (N=34). U tablici su prikazani opći demografski podaci. Prema dobi, istraživana skupina trudnica s tipom 1 šećerne bolesti imala je prosječno stariju životnu dob (30,00 ± 4,31) od trudnica kontrolne skupine (29,76 ± 4,84), razlika nije bila statistički značajna

(p=0,828; p>0,05). Navedeni rezultati su odgovarali kriterijima izbora za što manjom razlikom u dobi trudnica. Trudnice kontrolne skupine bile su nešto više (166,38 cm± 6,47) od trudnica istraživane skupine (166,00 cm± 5,56) trudnica; razlika u visini trudnica nije bila statistički značajna (p=0,788; p>0,05). Usporedba tjelesne težine (kg) trudnica je pokazala, da su trudnice s tipom 1 šećerne bolesti (**77,20 kg± 9,37**) imale manju tjelesnu težinu u odnosu na tjelesnu težinu trudnica kontrolne skupine (**83,03 kg± 12,01**); razlika je bila statistički značajna (**p = 0,024*; p<0,05**). Manja tjelesna težina trudnica s tipom 1 šećerne bolesti ukazuje na stabilan metabolizam ugljikohidrata, lipida i proteina u ovih trudnica, zbog dobre regulacije glikemije, te manjih oscilacija glikemije u 24-satnom profilu. Stabilan metabolizam ugljikohidrata istovremeno stabilizira i intermedijarni metabolizam, što nije slučaj kod zdravih trudnica. Istovremeno dobiveni rezultati ukazuju na manji prirast tjelesne težine tijekom trudnoće kod trudnica s tipom 1 šećerne bolesti (**13,36 kg± 4,27**), što ukazuje na bolju regulaciju glikemije i veću stabilnost metabolizma u istraživanoj skupini trudnica. Prirast tjelesne težine bio je veći u kontrolnoj skupini trudnica (**16,71 kg± 3,40**), te je razlika pokazala da su zdrave trudnice imale statistički značajno veći prirast tjelesne težine nego trudnice s tipom 1 šećerne bolesti; razlika je statistički značajna (**p<0,001****). Usporedba body mass index-a / BMI-a u obje skupineje bila podjednaka, tako je u skupini trudnica s tipom 1 šećerne bolesti bio nešto niži (23,19 ± 3,72), u odnosu na kontrolnu skupinu trudnica (23,94 ± 4,21), ali razlika nije bila statistički značajna (p = 0,424; p>0,05). Težina novorođenčadi izražena u gramima (g) bila je veća u istraživanoj skupini trudnica (3639,47 g± 584,80), nego u kontrolnoj skupini (3616,47 g± 498,77) trudnica. Razlika između istraživane i kontrolne skupine trudnica nije bila na razini statističke znakovitosti (p=0,859; p>0,05), premda su trudnice s tipom 1 šećerne bolesti rađale djecu, koja su prosječno bila teža od djece zdravih trudnica. Duljina čeda u centimetrima (cm) bila je nešto veća u kontrolnoj skupini trudnica (51,00 cm± 1,97), nego u istraživanoj skupini (50,08 cm± 2,51) trudnica. Razlika nije bila statistički značajna (p= 0,090; p>0,05). Apgar score u 1. i 5. minuti je pokazao da su trudnice s tipom 1 šećerne bolesti i trudnice kontrolne skupine trudnica rađale djecu dobre vitalnosti, bez statistički značajnih razlika u ishodu trudnoća (p>0,05). Acidobazni status krvi iz pupkovine nije se statistički razlikovao u trudnica s

tipom 1 šećerne bolesti i kontrolne skupine trudnica (p= 0,760; p>0,05). Procjena starosti čeda prema trajanju gestacije u tjednima (tj.) i dovršenja trudnoće ukazuje, da smo u trudnica dijabetičarki (**38,82 tj.± 0,96**) trudnoću dovršavali u prosjeku ranije nego u trudnica kontrolne (**39,41 tj.± 1,10**) skupine, razlika je bila statistički značajna (**p = 0,017*; p<0,05***). Težina posteljica trudnica dijabetičarki izražene u gramima (g) (652,63 g± 152,01), bile su teže od posteljica trudnica kontrolne (618,24 g± 94,66) skupine, ali bez statistički značajne razlike (p = 0,260; p>0,05). Trudnice s tipom 1 šećerne bolesti rađale su teže posteljice od zdravih trudnica.

Tablica 2: Ukupni lipidi i zastupljenost pojedinih skupina lipida izraženih u mikrogramima na 1 gram vlažnog tkiva posteljice (µg/g) u ukupnim lipidima

Mjerenja ukupnih lipida	**Kontrolna skupina zdravih trudnica / N^{o} 34**	**Skupina trudnica s tipom 1 DM / N^{o} 38**	Statistička znakovitost
(µg/g vlažnog tkiva posteljice)	(Srednja vrijednost ± SD)	(Srednja vrijednost ± SD)	(p)
UKUPNI LIPIDI	2253,65 ± 861,19	2204,84 ± 1552,22	t = 0,162 p = 0,872
Ukupni fosfolipidi	712,81 ± 236,76	631,03 ± 243,69	t = 1,441 p = 0,154
Ukupni triacilgliceroli	56,80 ± 29,63	50,35 ± 37,55	t = 0,802 p = 0,425
Ukupne slobodne masne kiseline	**191,89 ± 100,75**	**114,50 ± 73,06**	t = 3,759 **p = 0,000****
Ukupni kolesterol-esteri	**82,80 ± 44,28**	**54,58 ± 31,39**	t = 3,144 **p = 0,002***

***p<0,05; ****p<0,001**

U tablici br. 2 prikazani su rezultati mjerenja ukupnih lipida izraženih u mikrogramima na 1 gram vlažnog tkiva posteljice (µg/g) u trudnica s tipom 1 šećerne bolesti, te kontrolne skupine trudnica i zastupljenost pojedinih skupina lipida (µg/g) u ukupno ekstrahiranim lipidima. Tako su ukupni lipidi bili manje zastupljeni u posteljicama trudnica s tipom 1 šećerne bolesti (2204,84 µg/g ± 1552,22), nego u posteljicama trudnica kontrolne skupine (2253,65 µg/g ± 861,19); razlika nije bila statistički značajna (p = 0,872; p>0,05). Sve skupine lipida bile su manje zastupljene u

istraživanoj skupini trudnica, nego u kontrolnoj skupini trudnica. Skupina ukupnih fosfolipida u trudnica s tipom 1 šećerne bolesti bila je manje zastupljena, nego u posteljicama kontrolne skupine trudnica, razlika nije bila statistički značajna (p>0,05). Tako su ukupni fosfolipidi u posteljicama istraživane skupine (631,03 µg/g ± 243,69) bili manje zastupljeni, nego u posteljicama trudnica kontrolne skupine (712,81 µg/g± 236,76); razlika nije bila statistički značajna (p = 0,154; p>0,05). Skupina ukupnih triacilglicerola bila je manje zastupljena u istraživanoj skupini trudnica u odnosu na kontrolnu skupinu trudnica, razlika nije bila statistički značajna (p>0,05). Ukupni triacilgliceroli u posteljicama istraživane skupine (50,35 µg/g ± 37,55) bili su manje zastupljeni, nego u posteljicama trudnica kontrolne skupine (56,80 µg/g ± 29,63); razlika nije bila statistički značajna (p = 0,425; p>0,05). Skupina ukupnih slobodnih masnih kiselina, te skupina ukupnih kolesterol-estera se statistički značajno razlikovala u istraživanoj i kontrolnoj skupini trudnica. Ukupne slobodne masne kiseline u istraživanoj skupini trudnica (**114,50 µg/g ± 73,06**) bile su manje zastupljene u posteljicama, nego u posteljicama trudnica kontrolne skupine (**191,89 µg/g ± 100,75**); razlika je bila statistički značajna (**p = 0,000******; p<0,001****). Manje odlaganje slobodnih masnih kiselina u posteljice trudnica s tipom 1 šećerne bolesti vjerojatno je rezultat dobre metaboličke regulacije glikemije i stabilnijeg intermedijarnog metabolizma, nego u zdravih trudnica. Skupina ukupnih kolesterol-estera bila je manje zastupljena u uzorcima posteljica trudnica s tipom 1 šećerne bolesti (**54,58 µg/g ± 31,39**), nego u uzorcima posteljica kontrolne skupine trudnica (**82,80 µg/g ± 44,28**). Statistički značajno manje kolesterol-estera je bilo zastupljeno u uzorcima istraživane skupine trudnica u odnosu na kontrolnu skupinu trudnica (**p = 0,002*****; p<0,05***).

Tablica 3: Udio pojedinih skupina lipida izražen u postotku (%) u ukupnim lipidima

Mjerenja ukupnih lipida	**Kontrolna skupina zdravih trudnica / N^{o} 34**	**Skupina trudnica s tipom 1 DM / N^{o} 38**	Statistička znakovitost
(µg/g vlažnog tkiva posteljice)	**%**	**%**	(p)
UKUPNI LIPIDI	100,00	100,00	t = 0,162 p = 0,872
Ukupni fosfolipidi	31,63	28,62	t = 1,441 p = 0,154
Ukupni triacilgliceroli	2,52	2,28	t = 0,802 p = 0,425
Ukupne slobodne masne kiseline	**8,51**	**5,19**	t = 3,759 **p = 0,000****
Ukupni kolesterol-esteri	**3,67**	**2,48**	t = 3,144 **p = 0,002***

***p<0,05;** ****p<0,001**

Tablica br. 3 prikazuje zastupljenost pojedinih skupina lipida izraženu u postotku (%), u ukupnim lipidima. Sve skupine lipida bile su manje zastupljene u uzorcima posteljica trudnica s tipom 1 šećerne bolesti, nego u uzorcima posteljica kontrolne skupine trudnica, ali statistički značajna razlika je bila samo u skupini slobodnih masnih kiselina i skupini kolesterol-estera. Slobodne masne kiseline bile su zastupljene u manjem postotku u posteljicama trudnica s tipom 1 šećerne bolesti (**5,19%**), nego u trudnica kontrolne skupine (**8,51%**); razlika je bila statistički značajna (**p = 0,000******; p<0,001****). Ukupnih kolesterol-estera bilo je statistički značajno manje u posteljicama trudnica s tipom 1 šećerne bolesti (**2,48%**) u odnosu na kontrolnu skupinu trudnica (**3,67%**); (**p = 0,002*****; p<0,05***).

Tablica 4: Ukupni lipidi i zastupljenost pojedinih masnih kiselina izraženih u mikrogramima na 1 gram vlažnog tkiva posteljice (µg/g) u ukupnim lipidima

Mjerenja ukupnih lipida	**Kontrolna skupina zdravih trudnica / N^o 34**	**Skupina trudnica s tipom 1 DM / N^o 38**	Statistička znakovitost
(µg/g vlažnog tkiva posteljice)	(Srednja vrijednost ± SD)	(Srednja vrijednost ± SD)	(p)
UKUPNI LIPIDI	2253,65 ± 861,19	2204,84 ± 1552,22	t = 0,162 p = 0,872
Ukupna laurinska 12:0	**2,21 ± 6,32**	**6,19 ± 7,54**	t = - 2,408 **p = 0,019***
Ukupna miristinska 14:0	10,62 ± 3,80	12,61 ± 8,52	t = - 1,253 p = 0,214
Ukupna miristoleinska 14:1	18,52 ± 12,92	15,58 ± 12,02	t = 1,002 p = 0,320
Ukupna palmitinska 16:0	1028,34 ± 340,34	994,11 ± 877,06	t = 0,213 p = 0,832
Ukupna stearinska 18:0	360,97 ± 104,55	290,02 ± 200,14	t = 1,852 p = 0,068
Ukupna oleinska 18:1	271,77 ± 131,07	260,78 ± 232,50	t = 0,243 p = 0,809
Ukupna linolna 18:2	160,63 ± 206,96	147,19 ± 157,50	t = 0,312 p = 0,756
Ukupna arahidonska 20:4	224,65 ± 259,54	187,25 ± 293,01	t = 0,571 p = 0,570
Ukupna dokozaheksaenska 22:6	38,13 ± 36,28	30,81 ± 30,56	t = 0,929 p = 0,356
Ukupna lignocerinska 24:0	17,31 ± 25,90	20,17 ± 16,82	t = - 0,562 p = 0,576

***p<0,05**

U tablici br. 4 prikazani su ukupni lipidi i zastupljenost ukupno određivanih masnih kiselina u mikrogramima na 1 gram vlažnog tkiva (µg/g) posteljice u ukupnim lipidima. Ukupni lipidi bili su manje zastupljeni u skupini trudnica s tipom 1 šećerne bolesti (2204,84 µg/g ± 1552,22), nego u kontrolnoj skupini trudnica (2253,65 µg/g ± 861,19), ali bez statistički značajne razlike (p = 0,872; p>0,05); bilo je manje ukupnih lipida u posteljicama istraživane skupine trudnica u odnosu na kontrolnu skupinu trudnica. Određivanjem zastupljenosti pojedinih masnih kiselina u ukupnim lipidima uočeno je statistički značajno više ukupne laurinske 12:0 masne kiseline u posteljicama

trudnica s tipom 1 šećerne bolesti (**6,19 µg/g ± 7,54**), nego u posteljicama kontrolne skupine (**2,21 µg/g ± 6,32**) trudnica; (**p = 0,019*; p<0,05***). Pronađeno je više ukupne miristinske 14:0 i ukupne lignocerinske 24:0 masne kiseline u posteljicama trudnica s tipom 1 šećerne bolesti, nego u kontrolnoj skupini trudnica, ali bez statistički značajne razlike. Druge masne kiseline zastupljene u ukupnim lipidima poput ukupne miristoleinske 14:1, ukupne palmitinske 16:0, ukupne stearinske 18:0, ukupne oleinske 18:1, ukupne linolne 18:2 i ukupne dokozaheksaenske 22:6 masne kiseline bile su manje zastupljene u posteljicama trudnica s tipom 1 šećerne bolesti, nego u kontrolnoj skupini trudnica; navedene razlike zastupljenih masnih kiselina, u posteljicama trudnica s tipom 1 šećerne bolesti i sadržaja masnih kiselina u posteljicama kontrolne skupine trudnica nisu bile statistički značajne; $p>0,05$.

Tablica 5: Zastupljenost (%) pojedinih masnih kiselina u ukupnim lipidima

Mjerenja ukupnih lipida	**Kontrolna skupina zdravih trudnica / N^o 34**	**Skupina trudnica s tipom 1 DM / N^o 38**	Statistička znakovitost
(µg/g vlažnog tkiva posteljice)	**%**	**%**	(p)
UKUPNI LIPIDI	100,00	100,00	t = 0,162 p = 0,872
Ukupna laurinska 12:0	**0,10**	**0,28**	t = - 2,408 **p = 0,019***
Ukupna miristinska 14:0	0,47	0,57	t = - 1,253 p = 0,214
Ukupna miristoleinska 14:1	0,82	0,71	t = 1,002 p = 0,320
Ukupna palmitinska 16:0	45,63	45,09	t = 0,213 p = 0,832
Ukupna stearinska 18:0	16,02	13,15	t = 1,852 p = 0,068
Ukupna oleinska 18:1	12,06	11,83	t = 0,243 p = 0,809
Ukupna linolna 18:2	7,13	6,68	t = 0,312 p = 0,756
Ukupna arahidonska 20:4	9,97	8,49	t = 0,571 p = 0,570
Ukupna dokozaheksaenska 22:6	1,69	1,40	t = 0,929 p = 0,356
Ukupna lignocerinska 24:0	0,77	0,92	t = - 0,562 p = 0,576

***p<0,05**

U tablici br. 5 je izražen postotak (%) pojedinih masnih kiselina u ukupnim lipidima. Zastupljenost laurinske12:0 masne kiseline (**0,28%**) bila je statistički značajno veća (**p = 0,019*, p<0,05***) u posteljicama trudnica s tipom 1 šećerne bolesti, od zastupljenosti te masne kiseline (**0,10%**) u posteljicama kontrolne skupine trudnica. Od ostalih masnih kiselina u posteljicama trudnica istraživane skupine bile su zastupljenije miristinska 14:0 (0,57%; p = 0,214) i lignocerinska 24:0 (0,92%; p = 0,576) masna kiselina, ali bez statistički značajne razlike. Miristoleinska 14:1,

palmitinska 16:0, stearinska 18:0, oleinska 18:1, linolna 18:2, arahidonska 20:4 i dokozaheksaenska 22:6 masna kiselina bile su zastupljene u manjem postotku u posteljicama trudnica s tipom 1 šećerne bolesti, ali bez statistički značajne razlike, p>0,05.

Tablica 6: Ukupno ekstrahirani fosfolipidi i zastupljenost pojedinih masnih kiselina (µg/g) u fosfolipidima

Mjerenja fosfolipida	**Kontrolna skupina zdravih trudnica / N^{o} 34**	**Skupina trudnica s tipom 1 DM / N^{o} 38**	Statistička znakovitost
(µg/g vlažnog tkiva posteljice)	(Srednja vrijednost ± SD)	(Srednja vrijednost ± SD)	(p)
UKUPNI FOSFOLIPIDI	712,81 ± 236,76	631,03 ± 243,69	t = 1,441 p = 0,154
Laurinska 12:0	0,49 ± 0,64	1,01 ± 1,40	t = - 1,978 p = 0,052
Miristinska 14:0	**1,10 ± 0,55**	**1,54 ± 1,13**	t = - 2,054 **p = 0,044***
Miristoleinska 14:1	2,93 ± 2,50	3,22 ± 1,94	t = - 0,554 p = 0,581
Palmitinska 16:0	102,74 ± 35,74	107,05 ± 68,73	t = - 0,327 p = 0,744
Stearinska 18:0	28,23 ± 11,04	31,15 ± 20,43	t = - 0,741 p = 0,461
Oleinska 18:1	16,60 ± 7,39	15,16 ± 7,74	t = 0,807 p = 0,422
Linolna 18:2	6,29 ± 4,19	5,90 ± 5,44	t = 0,333 p = 0,740
Arahidonska 20:4	11,46 ± 11,47	12,13 ± 15,52	t = - 0,207 p = 0,836
Dokozaheksaenska 22:6	0,70 ± 0,92	0,75 ± 1,08	t = - 0,219 p = 0,828
Lignocerinska 24:0	**2,01 ± 2,26**	**0,69 ± 0,49**	t = 3,551 **p = 0,001***

***p<0,05**

Tablica br. 6 prikazuje zastupljenost pojedinih masnih kiselina izraženih u mikrogramima na 1 gram vlažnog tkiva posteljice (µg/g) u ekstrahiranim fosfolipidima. Ukupni fosfolipidi su bili manje zastupljeni u uzorcima posteljica istraživane skupine trudnica (631,03 µg/g ± 243,69), nego u uzorcima posteljica kontrolne skupine trudnica

(712,81 µg/g ± 236,76), ali bez statistički značajne razlike (p = 0,154; p>0,05). Miristinska 14:0 masna kiselina u ukupno ekstrahiranim fosfolipidima bila je statistički značajno zastupljenija (**p = 0,044*, p<0,05***) u uzorcima posteljica trudnica s tipom 1 šećerne bolesti (**1,54 µg/g ± 1,13**), nego u uzorcima posteljica kontrolne skupine trudnica (**1,10 µg/g ± 0,55**). Lignocerinska 24:0 masna kiselina u ukupno ekstrahiranim fosfolipidima bila je manje zastupljena u uzorcima posteljica trudnica s tipom 1 šećerne bolesti (**0,69 µg/g ± 0,49**), u odnosu na uzorke posteljica kontrolne skupine trudnica (**2,01 ± 2,26**). Uzorci posteljica istraživane skupine trudnica imale su statistički značajno (**p = 0,001*, p<0,05***) manje lignocerinske masne kiseline u ekstrahiranim ukupnim fosofolipidima. Laurinska 12:0, miristoleinska 14:1, palmitinska 16:0, stearinska 18:0, arahidonska 20:4 i dokozaheksaenska 22:6 masna kiselina bile su zastupljenije u uzorcima posteljica trudnica s tipom 1 šećerne bolesti, a manje zastupljene u uzorcima kontrolne skupine trudnica, ali bez statistički značajne razlike, p>0,05. Oleinska 18:1 i linolna 18:2 masna kiselina bile su manje zastupljene u uzorcima posteljica trudnica s tipom 1 šećerne bolesti u odnosu na uzorke posteljica kontrolne skupine trudnica, razlika nije bila statistički značajna, p>0,05.

Tablica 7: Zastupljenost (%) pojedinih masnih kiselina u skupini fosfolipida

Mjerenja fosfolipida	**Kontrolna skupina zdravih trudnica / N^{o} 34**	**Skupina trudnica s tipom 1 DM / N^{o} 38**	Statistička znakovitost
(µg/g vlažnog tkiva posteljice)	**%**	**%**	(p)
UKUPNI FOSFOLIPIDI	100,00	100,00	t = 1,441 p = 0,154
Laurinska 12:0	0,07	0,16	t = - 1,978 p = 0,052
Miristinska 14:0	**0,15**	**0,24**	t = - 2,054 **p = 0,044***
Miristoleinska 14:1	0,41	0,51	t = - 0,554 p = 0,581
Palmitinska 16:0	14,41	16,96	t = - 0,327 p = 0,744
Stearinska 18:0	3,96	4,94	t = - 0,741 p = 0,461
Oleinska 18:1	2,33	2,40	t = 0,807 p = 0,422
Linolna 18:2	0,88	0,94	t = 0,333 p = 0,740
Arahidonska 20:4	1,61	1,92	t = - 0,207 p = 0,836
Dokozaheksaenska 22:6	0,10	0,12	t = - 0,219 p = 0,828
Lignocerinska 24:0	**0,28**	**0,11**	t = 3,551 **p = 0,001***

***p<0,05**

Tablica br. 7 prikazuje zastupljenost (postotak/%) pojedinih masnih kiselina u ekstrahiranim fosfolipidima. Sve masne kiseline, osim lignocerinske 24:0 masne kiseline bile su više zastupljene u uzrocima posteljica trudnica s tipom 1 šećerne bolesti u ukupnim fosfolipidima, nego u uzorcima posteljica kontrolne skupine trudnica. Laurinska 12:0, miristoleinska 14:1, palmitinska 16:0, stearinska 18:0, oleinska 18:1, linolna 18:2, arahidonska 20:4 i dokozaheksaenska 22:6 masna kiselina bile su zastupljenije u uzorcima trudnica s tipom 1 šećerne bolesti, ali bez statistički značajne razlike, p>0,05. Lignocerinska 24:0 masna kiselina bila je manje zastupljena u uzorcima trudnica s tipom 1 šećerne bolesti (**0,11%**), nego u uzorcima kontrolne skupine trudnica (**0,28%**); statistički je značajno bilo manje lignocerinske masne

kiseline u uzorcima istraživane skupine trudnica nego u uzorcima kontrolne skupine trudnica (**p = 0,001*, p<0,05***). Miristinska 14:0 masna kiselina je bila više zastupljena u uzorcima trudnica s tipom 1 šećerne bolesti (**0,24%**), nego u uzorcima kontrolne skupine trudnica (**0,15%**); bilo je statistički značajno više miristinske masne kiseline u trudnica dijabetičarki, nego u kontrolnoj skupini trudnica (**p=0,044*, p<0,05***)

Tablica 8: Ukupni triacilgliceroli i zastupljenost pojedinih masnih kiselina (µg/g) u triacilglicerolima

Mjerenja triacilglicerola	**Kontrolna skupina zdravih trudnica / N^{o} 34**	**Skupina trudnica s tipom 1 DM / N^{o} 38**	Statistička znakovitost
(µg/g vlažnog tkiva posteljice)	(Srednja vrijednost ± SD)	(Srednja vrijednost ± SD)	(p)
UKUPNI TRIACILGLICEROLI	56,80 ± 29,63	50,35 ± 37,55	t = 0,802 p = 0,425
Laurinska 12:0	**0,42 ± 0,91**	**1,75 ± 1,95**	t = - 3,611 **p = 0,001***
Miristinska 14:0	1,02 ± 0,84	1,48 ± 1,33	t = - 1,715 p = 0,091
Miristoleinska 14:1	0,88 ± 0,70	0,63 ± 0,48	t = 1,774 p = 0,080
Palmitinska 16:0	22,18 ± 12,29	20,07 ± 17,15	t = 0,592 p = 0,556
Stearinska 18:0	4,20 ± 3,12	3,09 ± 2,27	t = 1,733 p = 0,087
Oleinska 18:1	6,17 ± 3,53	7,16 ± 8,46	t = - 0,623 p = 0,535
Linolna 18:2	1,93 ± 2,73	1,64 ± 1,96	t = 0,513 p = 0,610
Arahidonska 20:4	5,96 ± 3,69120	4,66 ± 4,05	t = 1,422 p = 0,159
Dokozaheksaenska 22:6	**0,342 ± 0,64**	**0,08 ± 0,13**	t = 2,465 **p = 0,016***
Lignocerinska 24:0	**5,67 ± 3,35**	**3,32 ± 3,08**	t = 3,105 **p = 0,003***

***p<0,05**

Tablica br. 8 prikazuje skupinu ukupno ekstrahiranih triacilglicerola sa zastupljenim masnim kiselinama izraženim u mikrogramima na 1 gram vlažnog tkiva posteljice (µg/g). Ukupno ekstrahirani triacilgliceroli su bili manje zastupljeni u

uzorcima posteljica trudnica s tipom 1 šećerne bolesti (50,35 µg/g± 37,55), nego u uzorcima posteljica kontrolne skupine trudnica (56,80 µg/g± 29,63); razlika nije bila statistički značajna (p = 0,425; p>0,05). Međutim usporedba zastupljenih masnih kiselina u skupini triglicerida je pokazala određene osobitosti. Laurinska 12:0 masna kiselina je bila zastupljenija u uzorcima posteljica trudnica s tipom 1 šćećerne bolesti (**1,75 µg/g ± 1,95**), nego u uzorcima posteljica kontrolne skupine trudnica (**0,42 µg/g ± 0,91**); razlika je pokazala statistički značajno više zastupljene laurinske 12:0 masne kiseline u trudnica dijabetičarki (**p = 0,001*; p<0,05***) u ukupno ekstrahiranim triacilglicerolima. Miristinska 14:0 i oleinska 18:1 masna kiselina bile su više zastupljene u uzorcima posteljica dijabetičkih trudnica nego u kontrolnoj skupini trudnica, ali bez statistički značajne razlike, p>0,05. Manje zastupljene masne kiseline u uzorcima trudnica s tipom 1 šećerne bolesti bile su: miristoleinska 14:1, palmitinska 16:0, stearinska 18:0, linolna 18:2 i arahidonska 20:4 masna kiselina, ali bez statistički značajno manje zastupljenosti u odnosu na uzorke kontrolne skupine trudnica, p>0,05. Statistički su značajno manje bile zastupljene dokozaheksaenska 22:6 i lignocerinska 24:0 masna kiselina u uzorcima posteljica trudnica s tipom 1 šećerne bolesti. Dokozaheksaenska 22:6 (**0,08 µg/g ± 0,13**; **p = 0,016***) i lignocerinska 24:0 (**3,32 µg/g ± 3,08**; **p = 0,003***) masna kiselina, bile su statistički značajno manje zastupljene u odnosu na njihovu zastupljenost u uzorcima posteljica kontrolne skupine trudnica. U ovoj skupini lipida u uzorcima posteljica trudnica s tipom 1 šećerne bolesti bila je zastupljenija i oleinska masna kiselina (7,16 µg/g ± 8,46) u odnosu na njenu zastupljenost u uzorcima posteljica kontrolne skupine trudnica (6,17 µg/g ± 3,53), ali bez statistički značajne razlike, p>0,05.

Tablica 9: Zastupljenost (%) pojedinih masnih kiselina u skupini triacilglicerola

Mjerenja triacilglicerola	**Kontrolna skupina zdravih trudnica / N^o 34**	**Skupina trudnica s tipom 1 DM / N^o 38**	Statistička znakovitost
(µg/g vlažnog tkiva posteljice)	**%**	**%**	(p)
UKUPNI TRIACILGLICEROLI	100,00	100,00	t = 0,802 p = 0,425
Laurinska 12:0	**0,75**	**3,47**	t = - 3,611 **p = 0,001***
Miristinska 14:0	1,80	2,94	t = - 1,715 p = 0,091
Miristoleinska 14:1	1,54	1,25	t = 1,774 p = 0,080
Palmitinska 16:0	39,05	39,87	t = 0,592 p = 0,556
Stearinska 18:0	7,39	6,14	t = 1,733 p = 0,087
Oleinska 18:1	10,86	14,22	t = - 0,623 p = 0,535
Linolna 18:2	3,39	3,26	t = 0,513 p = 0,610
Arahidonska 20:4	10,49	9,25	t = 1,422 p = 0,159
Dokozaheksaenska 22:6	**0,60**	**0,16**	t = 2,465 **p = 0,016***
Lignocerinska 24:0	**9,98**	**6,59**	t = 3,105 **p = 0,003***

***p<0,05**

Tablica br. 9 prikazuje postotak (%) zastupljenih masnih kiselina u skupini triacilglicerolima. Skupina trudnica s tipom 1 šećerne bolesti imala je statistički značajno više laurinske 12:0 masne kiseline (**3,47%**) u odnosu na uzorke posteljica kontrolne skupine trudnica (**0,75%**); razlika je bila statistički značajna (**p = 0,001*; p<0,05**). Razlika je bila prisutna i u količini dokozaheksaenske 22:6 i lignocerinske 24:0 masne kiseline. Tako je bilo statistički značajno manje dokozaheksaenske 22:6 masne kiseline u uzorcima posteljica trudnica s tipom 1 šećerne bolesti (**0,16%**), nego u uzorcima kontrolne skupine trudnica (**0,60%**). Razlika je bila statistički značajna (**p = 0,016*; p<0,05***). Osim dokozaheksaenske 22:6 i lignocerinska 24:0 masna kiselina je bila statistički značajno manje zastupljena u skupini triacilglicerola u uzorcima

posteljica trudnica s tipom 1 šećerne bolesti (**6,59%**), nego u uzorcima kontrolne skupine trudnica (**9,98%**). Razlika je bila statistički značajna (**p = 0,003*; p<0,05***). Od ostalih masnih kiselina su miristinska 14:0, palmitinska 16:0 i oleinska 18:1 masna kiselina bile zastupljenije u uzorcima posteljica istraživane skupine trudnica, nego u uzorcima kontrolne skupine trudnica, ali bez statistički značajne razlike, p>0,05. Manje zastupljene masne kiseline u istraživanoj skupini trudnica bile su miristoleinska 14:1, stearinska 18:0, linolna 18:2 i arahidonska 20:4 masna kiselina u odnosu na uzorke kontrolne skupine trudnica. Razlika nije bila statistički značajna, p>0,05.

Tablica br. 10: Ukupne slobodne masne kiseline te zastupljenost pojedinih masnih kiselina (µg/g) u slobodnim masnim kiselinama

Mjerenja slobodnih masnih kiselina (µg/g vlažnog tkiva posteljice)	**Kontrolna skupina zdravih trudnica / N^{o} 34** (Srednja vrijednost ± SD)	**Skupina trudnica s tipom 1 DM / N^{o} 38** (Srednja vrijednost ± SD)	Statistička znakovitost (p)
UKUPNE SLOBODNE MASNE KISELINE	**191,89 ± 100,75**	**114,50 ± 73,06**	t = 3,759 **p = 0,000****
Laurinska 12:0	**0,20 ± 0,45**	**1,46 ± 1,85**	t = - 3,898 **p = 0,000****
Miristinska 14:0	2,60 ± 1,00	2,81 ± 1,93	t = - 0,572 p = 0,569
Miristoleinska 14:1	**5,40 ± 3,06**	**3,41 ± 1,99**	t = 3,308 **p = 0,001***
Palmitinska 16:0	**110,87 ± 66,55**	**59,31 ± 40,87**	t = 4,007 **p = 0,000****
Stearinska 18:0	**47,58 ± 35,62**	**19,48 ± 13,46**	t = 4,519 **p = 0,000****
Oleinska 18:1	**19,92 ± 18,57**	**8,76 ± 8,75**	t = 3,319 **p = 0,001***
Linolna 18:2	**4,19 ± 5,09**	**2,25 ± 2,71**	t = 2,053 **p = 0,044***
Arahidonska 20:4	4,59 ± 3,28	4,06 ± 3,42	t = 0,667 p = 0,507
Dokozaheksaenska 22:6	**0,41 ± 0,48**	**0,09 ± 0,13**	t = 4,066 **p = 0,000****
Lignocerinska 24:0	4,05 ± 4,38	3,20 ± 2,43	t = 1,030 p = 0,306

*p<0,05; **p<0,001

Tablica br. 10 prikazuje ukupne slobodne masne kiseline uzoraka u mikrogramima na 1 gram vlažnog tkiva posteljice (µg/g), te njihovu zastupljenost u skupini slobodnih masnih kiselina. Ukupne slobodne masne kiseline bile su statistički značajno manje zastupljene u uzorcima posteljica trudnica s tipom 1 šećerne bolesti (**114,50 µg/g ± 73,06**), nego u uzorcima kontrolne skupine trudnica (**191,89 µg/g ± 100,75**). Razlika je bila statistički značajna (**p = 0,000**; p<0,001****). Od određivanih i zastupljenih masnih kiselina u skupini ukupnih slobodnih masnih kiselina bilo je

statistički značajno više laurinske 12:0 masne kiseline u uzorcima posteljica trudnica s tipom 1 šećerne bolesti (**1,46 µg/g± 1,85**), nego u uzorcima posteljica kontrolne skupine trudnica (**0,20 µg/g ± 0,45**). Razlika je bila statistički značajna (**p = 0,000******; p<0,001****). Miristoleinska 14:1 masna kiselina je bila statistički značajno manje zastupljena u uzorcima posteljica trudnica s tipom 1 šećerne bolesti (**3,41 µg/g ± 1,99**), nego u uzorcima posteljica kontrolne skupine trudnica (**5,40 µg/g ± 3,06**). Razlika je bila statistički značajna (**p = 0,001*****; p<0,05**). Palmitinska 16:0 masna kiselina je bila statistički značajno manje zastupljena u uzorcima posteljica trudnica s tipom 1 šećerne bolesti (**59,31 µg/g ± 40,87**), nego u uzorcima posteljica kontrolne skupine trudnica (**110,87 µg/g ± 66,55**). Razlika je bila statistički značajna (**p = 0,000******; p<0,001****). Stearinska 18:0 masna kiselina je isto bila statistički značajno manje zastupljena u uzorcima posteljica trudnica s tipom 1 šećerne bolesti (**19,48 µg/g ± 13,46**), nego u uzorcima posteljica kontrolne skupine trudnica (**47,58 µg/g ± 35,62**). Razlika je bila statistički značajna (**p = 0,000******; p<0,001****). Oleinska 18:1 masna kiselina je bila statistički značajno manje zastupljena u uzorcima posteljica trudnica s tipom 1 šećerne bolesti (**8,76 µg/g ± 8,75**), nego u uzorcima posteljica kontrolne skupine trudnica (**19,92 µg/g ± 18,57**). Razlika je bila statistički značajna (**p = 0,001*****; p<0,05**). Linolna 18:2 masna kiselina je bila statistički značajno manje zastupljena u uzorcima posteljica trudnica s tipom 1 šećerne bolesti (**2,25 µg/g ± 2,71**), nego u uzorcima posteljica kontrolne skupine trudnica (**4,19 µg/g ± 5,09**). Razlika je bila statistički značajna (**p = 0,044*****; p<0,05**). Dokozaheksaenska 22:6 masna kiselina je bila statistički značajno manje zastupljena u uzorcima posteljica trudnica s tipom 1 šećerne bolesti (**2,25 µg/g ± 2,71**), nego u uzorcima posteljica kontrolne skupine trudnica (**4,19 µg/g ± 5,09**). Razlika je bila statistički značajna (**p = 0,044*****; p<0,05**). Miristinska masna kiselina je bila od ostalih masnih kiselina više zastupljena u uzorcima trudnica s tipom 1 šećerne bolesti (2,81 µg/g ± 1,93), nego u uzorcima kontrolne skupine trudnica (2,60 µg/g ± 1,00). Razlika nije bila statistički značajna (p = 0,569; p>0,05). Arahidonska 20:4 masna kiselina je bila manje zastupljena u uzorcima trudnica s tipom 1 šećerne bolesti (4,06 µg/g ± 3,42), nego u uzorcima kontrolne skupine trudnica (4,59 µg/g ± 3,28). Razlika nije bila statistički značajna (p = 0,507; p>0,05). Lignocerinska 24:0 masna kiselina je bila manje zastupljena u uzorcima trudnica s tipom 1 šećerne bolesti

(3,20 µg/g ± 2,43), nego u uzorcima kontrolne skupine trudnica (4,05 µg/g ± 4,38). Razlika nije bila statistički značajna (p = 0,306; p>0,05).

Tablica 11: Zastupljenost (%) pojedinih masnih kiselina u skupini slobodnih masnih kiselina

Mjerenja slobodnih masnih kiselina	**Kontrolna skupina zdravih trudnica / N^{o} 34**	**Skupina trudnica s tipom 1 DM / N^{o} 38**	Statistička znakovitost
(µg/g vlažnog tkiva posteljice)	**%**	**%**	(p)
UKUPNE SLOBODNE MASNE KISELINE	**100,00**	**100,00**	t = 3,759 **p = 0,000****
Laurinska 12:0	**0,10**	**1,28**	t = - 3,898 **p = 0,000****
Miristinska 14:0	1,35	2,45	t = - 0,572 p = 0,569
Miristoleinska 14:1	**2,82**	**2,98**	t = 3,308 **p = 0,001***
Palmitinska 16:0	**57,78**	**51,80**	t = 4,007 **p = 0,000****
Stearinska 18:0	**24,80**	**17,01**	t = 4,519 **p = 0,000****
Oleinska 18:1	**10,38**	**7,65**	t = 3,319 **p = 0,001***
Linolna 18:2	**2,18**	**1,96**	t = 2,053 **p = 0,044***
Arahidonska 20:4	2,39	3,54	t = 0,667 p = 0,507
Dokozaheksaenska 22:6	**0,22**	**0,08**	t = 4,066 **p = 0,000****
Lignocerinska 24:0	2,11	2,79	t = 1,030 p = 0,306

*p<0,05; **p<0,001

Tablica br. 11 prikazuje zastupljenost pojedinih masnih kiselina izraženih u postotku (%) u skupini slobodnih masnih kiselina. U skupini ukupnih slobodnih masnih kiselina laurinska 12:0 masna kiselina je bila zastupljenija u uzorcima posteljica trudnica s tipom 1 šećerne bolesti (**1,28%**) u odnosu na njenu zastupljenost u uzorcima

kontrolne skupine trudnica (**0,10%**). Statistički značajno više laurinske 12:0 masne kiseline je bilo u istraživanoj skupini trudnica (**p = 0,000******; p<0,001****). Miristoleinska 14:1 masna kiselina je bila statistički značajno više zastupljena u (%) uzorcima istraživane skupine trudnica (**2,98%**), nego u uzorcima kontrolne skupine trudnica (**2,82%**). Razlika je bila statistički značajna (**p = 0,001*****; p<0,05***). Palmitinska 16:0 masna kiselina je bila manje zastupljena u uzorcima trudnica s tipom 1 šećerne bolesti (**51,80%**), nego u uzorcima posteljica kontrolne skupine trudnica (**57,78%**). Razlika je statistički značajna (**p = 0,000******; p<0,001****). Stearinska 18:0 masna kiselina je bila manje zastupljena u postotku, u uzorcima istraživane skupine trudnica (**17,01%**), nego u uzorcima kontrolne skupine trudnica (**24,80%**). Razlika je bila statistički značajna (**p = 0,000******; p<0,001****). Oleinska 18:1masna kiselina je bila manje zastupljena u uzorcima trudnica s tipom 1 šećerne bolesti (**7,65%**), nego u uzorcima posteljica kontrolne skupine trudnica (**10,38%**). Razlika je statistički značajna (**p = 0,001*****; p<0,05***). Linolna 18:2 masna kiselina je bila manje zastupljena u uzorcima trudnica s tipom 1 šećerne bolesti (**1,96%**), nego u uzorcima posteljica kontrolne skupine trudnica (**2,18%**). Razlika je statistički značajna (**p = 0,044*****; p<0,05***). Dokozaheksaenska 22:6 masna kiselina je bila manje zastupljena u uzorcima trudnica s tipom 1 šećerne bolesti (**0,08%**), nego u uzorcima posteljica kontrolne skupine trudnica (**0,22%**). Razlika je statistički značajna (**p = 0,000******; p<0,001****). Od ostalih određivanih masnih kiselina bile su zastupljene miristinska 14:0, arahidonska 20:4 i lignocerinska 24:0 masna kiselina. Miristinska 14:0 masna kiselina je bila više zastupljena u uzorcima trudnica s tipom 1 šećerne bolesti (2,45%), nego u uzorcima posteljica kontrolne skupine trudnica (1,35%). Razlika nije bila statistički značajna (p = 0,569; p>0,05). Arahidonska 20:4 masna kiselina je bila više zastupljena u uzorcima trudnica s tipom 1 šećerne bolesti (3,54%), nego u uzorcima posteljica kontrolne skupine trudnica (2,39%). Razlika nije bila statistički značajna (p = 0,507; p>0,05). Posljednja je bila lignocerinska 24:0 masna kiselina, koja je bila više zastupljena u uzorcima trudnica s tipom 1 šećerne bolesti (2,79%), nego u uzorcima posteljica kontrolne skupine trudnica (2,11%). Razlika nije bila statistički značajna (p = 0,306; p>0,05).

Tablica 12: Ukupni kolesterol-esteri te zastupljenost pojedinih masnih kiselina (µg/g) u kolestrol-esterima

Mjerenja kolesterol-estera	**Kontrolna skupina zdravih trudnica / N^{o} 34**	**Skupina trudnica s tipom 1 DM / N^{o} 38**	Statistička znakovitost
(µg/g vlažnog tkiva posteljice)	(Srednja vrijednost ± SD)	(Srednja vrijednost ± SD)	(p)
UKUPNI KOLESTEROL-ESTERI	**82,80 ± 44,28**	**54,58 ± 31,39**	t = 3,144 **p = 0,002***
Laurinska 12:0	**0,39 ± 0,91**	**1,79 ± 2,28**	t = - 3,348 p = **0,001***
Miristinska 14:0	0,75 ± 0,51	0,80 ± 0,65	t = - 0,344 p = 0,732
Miristoleinska 14:1	**0,53 ± 0,46**	**0,28 ± 0,31**	t = 2,705 **p = 0,009***
Palmitinska 16:0	**26,14 ± 12,65**	**16,50 ± 11,24**	t = 3,425 **p = 0,001***
Stearinska 18:0	**2,156 ± 2,06**	**1,18 ± 0,58**	t = 2,807 **p = 0,006***
Oleinska 18:1	10,94 ± 6,94	8,02 ± 7,50	t = 1,708 p = 0,092
Linolna 18:2	**10,00 ± 11,47**	**5,60 ± 6,67**	t = 2,014 **p = 0,048***
Arahidonska 20:4	7,28 ± 4,92	6,34 ± 5,75	t = 0,746 p = 0,458
Dokozaheksaenska 22:6	**3,33 ± 2,22**	**1,53 ± 1,55**	t = 4,025 **p = 0,000****
Lignocerinska 24:0	**6,90 ± 5,64**	**4,08 ± 3,59**	t = 2,556 **p = 0,013***

*p<0,05; **p<0,001

Tablica br. 12 prikazuje rezultate određivanih ukupnih kolesterol-estera u mikrogramima na 1 gram vlažnog tkiva (µg/g) posteljice, te zastupljenost pojedinih masnih kiselina (µg/g) u kolestrol-esterima. Ukupni kolesterol-esteri bili su manje zastupljeni u uzorcima posteljica trudnica s tipom 1 šećerne bolesti (**54,58 µg/g ± 31,39**), nego u uzorcima posteljica kontrolne skupine trudnica (**82,80 µg/g ± 44,28**). Razlika je bila statistički značajna, što ukazuje na značajno manju zastupljenost ukupnih kolesterol-estera u istraživanoj skupini trudnica (**p = 0,002*; p<0,05***). Prema zastupljenosti pojedinih masnih kiselina u skupini kolesterol-estera laurinska 12:0

masna kiselina je bila više zastupljena u uzorcima posteljica trudnica s tipom 1 šećerne bolesti (**1,79 µg/g ± 2,28**), nego u uzorcima kontrolne skupine trudnica (**0,39 µg/g ± 0,91**). Razlika je bila statistički značajna, te je ukazala na značajno veće odlaganje laurinske kiseline 12:0 u posteljice trudnica s tipom 1 šećerne bolesti (**p = 0,001*; p<0,05***). Značajne razlike u odlaganju masnih kiselina bile su i za miristoleinsku 14:1, palmitinsku 16:0, stearinsku 18:0, linolnu 18:2, dokozaheksaensku 22:6 i lignocerinsku 24:0 masnu kiselinu. Miristoleinska 14:1 masna kiselina je bila manje zastupljena u uzorcima posteljica trudnica s tipom 1 šećerne bolesti (**0,28 µg/g ± 0,31**), nego u uzorcima posteljica kontrolne skupine trudnica (**0,53 µg/g ± 0,46**). Razlika je bila statistički značajna, te se značajno manje miristoleinske 14:1 masne kiseline odlagalo u posteljice trudnica s tipom 1 šećerne bolesti (**p = 0,009*; p<0,05***). Palmitinska 16:0 masna kiselina je bila manje zastupljena u uzorcima posteljica trudnica s tipom 1 šećerne bolesti (**16,50 µg/g ± 11,24**), nego u uzorcima posteljica kontrolne skupine trudnica (**26,14 µg/g ± 12,65**). Razlika je bila statistički značajna, te se značajno manje palmitinske 16:0 masne kiseline odlagalo u posteljice trudnica s tipom 1 šećerne bolesti (**p = 0,001*; p<0,05***). Stearinska 18:0 masna kiselina u skupini kolesterol-estera je bila manje zastupljena u uzorcima posteljica trudnica s tipom 1 šećerne bolesti (**1,18 µg/g ± 0,58**), nego u uzorcima posteljica kontrolne skupine trudnica (**2,156 µg/g ± 2,06**). Razlika je ukazala na statistički značajno manje odlaganje ove masne kiseline u posteljice trudnica s tipom 1 šećerne bolesti (**p = 0,006*; p<0,05***). Linolna 18:2 masna kiselina je bila manje zastupljena u uzorcima posteljica trudnica s tipom 1 šećerne bolesti (**5,60 µg/g ± 6,67**), nego u uzorcima posteljica kontrolne skupine trudnica (**10,00 µg/g ± 11,47**). Razlika je ukazala na statistički značajno manje odlaganje linolne 18:2 masne kiseline u posteljice trudnica s tipom 1 šećerne bolesti (**p = 0,048*; p<0,05***). Dokozaheksaenska 22:6 masna kiselina je bila statistički značajno manje zastupljena u uzorcima posteljica trudnica s tipom 1 šećerne bolesti (**1,53 µg/g ± 1,55**), nego u uzorcima posteljica kontrolne skupine trudnica (**3,33 µg/g ± 2,22**). Razlika je bila statistički značajna (**p =0,000**; **p<0,001****), te ukazuje na značajno manje odlaganje ove masne kiseline u posteljice trudnica s tipom 1 šećerne bolesti. Lignocerinska 24:0 masna kiselina se značajno manje odlagala u posteljice trudnica s tipom 1 šećerne bolesti (**4,08 µg/g ± 3,59**), nego u posteljice kontrolne skupine trudnica

(**6,90 µg/g ± 5,64**). Razlika je pokazala statistički značajno manje odlaganje ove masne kiseline u trudnica s tipom 1 šećerne bolesti (**p = 0,013*; p<0,05***). Od ostalih masnih kiselina koje su određene u skupini kolesterol-estera miristinska 14:0 masna kiselina se više odlagala u posteljice trudnica s tipom 1 šećerne bolesti (0,80 µg/g ± 0,65), nego u posteljice kontrolne skupine trudnica (0,75 µg/g ± 0,51). Međutim nije bilo statistički značajne razlike (p = 0,732; p>0,05) u odlaganju miristinske 14:0 masne kiseline u posteljično tkivo istraživane i kontrolne skupine trudnica. Oleinska 18:1 masna kiselina se manje odlagala u posteljice trudnica s tipom 1 šećerne bolesti (8,02 µg/g ± 7,50), nego u posteljice kontrolne skupine trudnica (10,94 µg/g ± 6,94). Razlika nije bila statistički značajna (p = 0,092; p>0,05). Arahidonska 20:4 masna kiselina se manje odlagala u posteljice trudnica s tipom 1 šećerne bolesti (6,34 µg/g ± 5,75), nego u posteljice kontrolne skupine trudnica (7,28 µg/g ± 4,92). U skupini kolesterol-estera arahidonska 20:4 masna kiselina se manje odlagala u posteljice istraživane skupine trudnica, ali bez statistički značajne razlike (p = 0,458; p>0,05).

Tablica br. 13: Zastupljenost (%) pojedinih masnih kiselina u skupini kolesterol-estera

Mjerenja kolesterol-estera	**Kontrolna skupina zdravih trudnica / N^{o} 34**	**Skupina trudnica s tipom 1 DM / N^{o} 38**	Statistička znakovitost
(µg/g vlažnog tkiva posteljice)	**%**	**%**	(p)
UKUPNI KOLESTEROL-ESTERI	**100,00**	**100,00**	t = 3,144 **p = 0,002***
Laurinska 12:0	**0,47**	**3,28**	t = - 3,348 p = **0,001***
Miristinska 14:0	0,90	1,46	t = - 0,344 p = 0,732
Miristoleinska 14:1	**0,64**	**0,52**	t = 2,705 **p = 0,009***
Palmitinska 16:0	**31,57**	**30,23**	t = 3,425 **p = 0,001***
Stearinska 18:0	**2,60**	**2,16**	t = 2,807 **p = 0,006***
Oleinska 18:1	13,22	14,70	t = 1,708 p = 0,092
Linolna 18:2	**12,07**	**10,26**	t = 2,014 **p = 0,048***
Arahidonska 20:4	8,78	11,61	t = 0,746 p = 0,458
Dokozaheksaenska 22:6	**4,03**	**2,80**	t = 4,025 **p = 0,000****
Lignocerinska 24:0	**8,33**	**7,47**	t = 2,556 **p = 0,013***

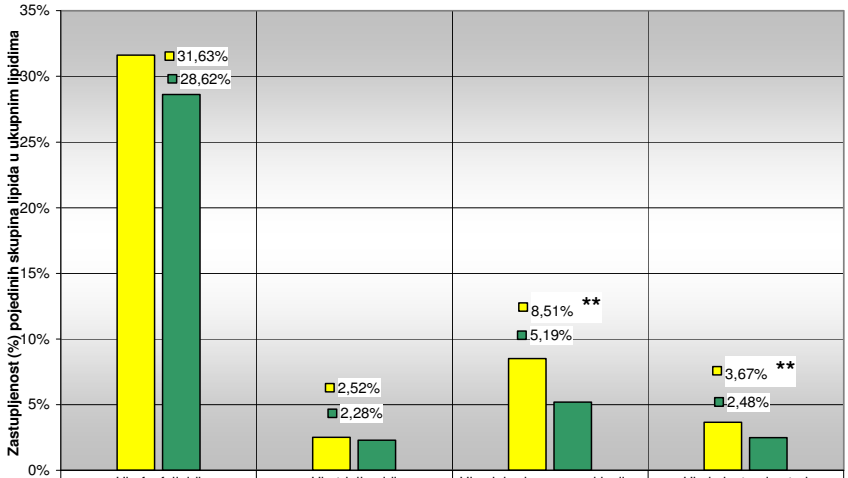
*p<0,05; **p<0,001

Tablica br. 13 pokazuje zastupljenost pojedinih masnih kiselina u postotku (%), u skupini kolesterol-estera. Samo je laurinska 12:0 masna kiselina bila zastupljenija u posteljicama trudnica s tipom 1 šećerne bolesti (**3,28%**), nego u posteljicama kontrolne skupine trudnica (**0,47%**). Razlika je bila statistički značajna, te se značajno više laurinske 12:0 masne kiseline odlagalo u posteljice istraživane skupine trudnica (**p = 0,001*; p<0,05***). Od statistički značajnih razlika u odlaganju masnih kiselina za spomenuti su miristoleinska 14:1, palmitinska 16:0, stearinska 18:0, linolna 18:2, dokozaheksaenska 22:6 i lignocerinska 24:0 masna kiselina, koje su se odlagale manje u posteljice istraživane skupine, nego u posteljice kontrolne skupine trudnica. Miristoleinska 14:1 masna kiselina se odlagala manje u posteljice trudnica s tipom 1

šećerne bolesti (**0,52%**), nego u posteljice kontrolne skupine trudnica (**0,64%**). Razlika je bila statistički značajna (**p = 0,009*; p<0,05***), te je pokazala statistički značajno manje odlaganje ove masne kiseline u posteljice istraživane skupine. Palmitinska 16:0 masna kiselina se manje odlagala u posteljice trudnica s tipom 1 šećerne bolesti (**30,23%**), nego u posteljice kontrolne skupine trudnica (**31,57%**). Razlika je bila statistički značajna (**p = 0,001*; p<0,05***), te je pokazala statistički značajno manje odlaganje palmitinske 16:0 masne kiseline u posteljice istraživane skupine. Stearinska 18:0 masna kiselina se manje odlagala u posteljice trudnica s tipom 1 šećerne bolesti (**2,16%**), nego u posteljice kontrolne skupine trudnica (**2,60%**). Razlika je bila statistički značajna (**p = 0,006*; p<0,05***), te je pokazala statistički značajno manje odlaganje stearinska 18:0 masne kiseline u posteljice istraživane skupine. Linolna 18:2 masna kiselina se manje odlagala u posteljice trudnica s tipom 1 šećerne bolesti (**10,26%**), nego u posteljice kontrolne skupine trudnica (**12,07%**). Razlika je bila statistički značajna (**p = 0,048*; p<0,05***), te je pokazala statistički značajno manje odlaganje linolne 18:2 masne kiseline u posteljice istraživane skupine. Dokozaheksaenska 22:6 masna kiselina se manje odlagala u posteljice trudnica s tipom 1 šećerne bolesti (**2,80%**), nego u posteljice kontrolne skupine trudnica (**4,03%**). Razlika je bila statistički značajna (**p = 0,000**; p<0,001****), te je pokazala statistički značajno manje odlaganje dokozaheksaenske 22:6 masne kiseline u posteljice istraživane skupine. Lignocerinska 24:0 masna kiselina se manje odlagala u posteljice trudnica s tipom 1 šećerne bolesti (**7,47%**), nego u posteljice kontrolne skupine trudnica (**8,33%**). Razlika je bila statistički značajna (**p = 0,013*; p<0,05***), te je pokazala statistički značajno manje odlaganje lignocerinske 24:0 masne kiseline u posteljice istraživane skupine. Od ostalih masnih kiselina u skupini kolesterol-estera bile su miristinska 14:0, oleinska 18:1 i arahidonska 20:4 masna kiselina koje su se više odlagale u posteljice istraživane skupine trudnica. Miristinska 14:0 masna kiselina se više odlagala u posteljice trudnica s tipom 1 šećerne bolesti (1,46%), nego u posteljice kontrolne skupine trudnica (0,90%). Međutim razlika nije bila statistički značajna (p = 0,732; p>0,05). Oleinska 18:1masna kiselina se više odlagala u posteljice trudnica s tipom 1 šećerne bolesti (14,70%), nego u posteljice kontrolne skupine trudnica (13,22%). Međutim razlika nije bila statistički značajna (p = 0,092; p>0,05).

Arahidonska 20:4 masna kiselina se više odlagala u posteljice trudnica s tipom 1 šećerne bolesti (11,61%), nego u posteljice kontrolne skupine trudnica (8,78%). Međutim razlika nije bila statistički značajna ($p = 0,458$; $p>0,05$).

4.2. GRAFIČKI PRIKAZ REZULTATA



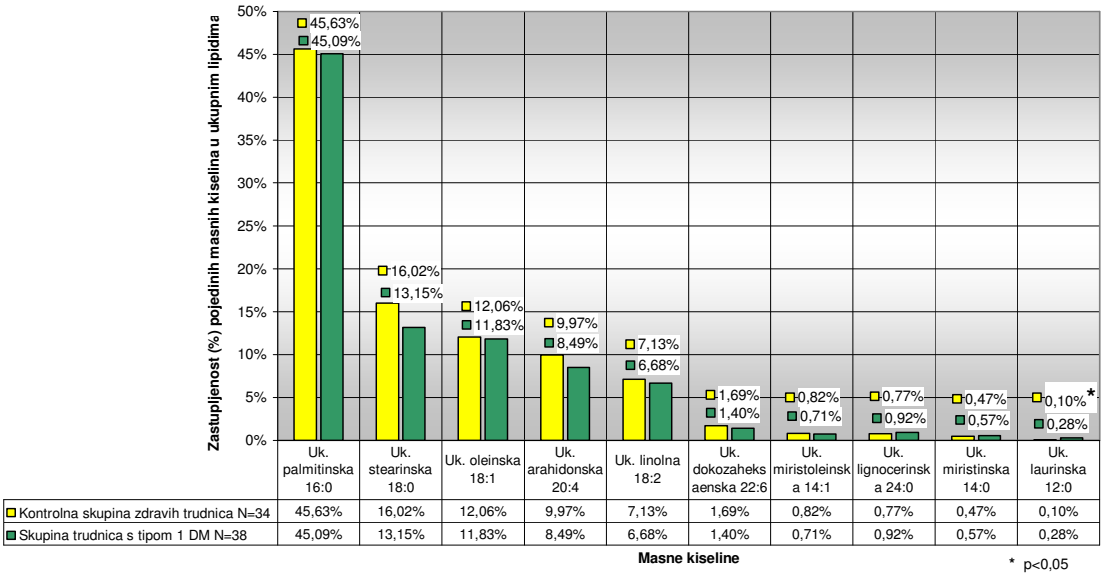
	Uk. fosfolipidi	Uk. trigliceridi	Uk. slobodne masne kiseline	Uk. kolesterol-esteri
Kontrolna skupina zdravih trudnica (N=34)	31,63%	2,52%	8,51%	3,67%
Skupina trudnica s tipom 1 DM (N=38)	28,62%	2,28%	5,19%	2,48%

Graf 1: Zastupljenost (%) pojedinih skupina lipida u ukupnim lipidima

* p<0,05
** p<0,001

Grafikon br.1 prikazuje zastupljenost (%) četiri velike skupine određivanih lipida u ukupnim lipidima. Na apscisi su prikazane četiri skupine lipida, od najzastupljenije do najmanje zastupljene skupine lipida. Na ordinati je izražen postotak (%) svake pojedine skupine lipida. Zelenom bojom su označeni uzorci istraživane skupine trudnica s tipom 1 šećerne bolesti, a žutom bojom uzorci kontrolne skupine trudnica. Prema zasupljenosti određivanih skupina lipida najzastupljeniji su bili ukupni fosfolipidi, zatim ukupne slobodne masne kiseline, ukupni kolesterol-esteri, a najmanje zastupljeni su bili ukupni triacilgliceroli/trigliceridi. Statistički značajna razlika u zastupljenosti pojedinih skupina lipida bila je u skupini slobodnih masnih kiselina i skupini kolesterol-estera. Najzastupljenija skupina lipida/fosfolipidi/ bila je manje zastupljena u uzorcima posteljica trudnica s tipom 1 šećerne bolesti (28,62%) u odnosu na njihovu zastupljenost u uzorcima posteljica kontrolne skupine trudnica (31,63%). Razlika nije bila statistički značajna. U sljedećoj skupini lipida skupini slobodnih masnih kiselina grafikon br. 1 prikazuje manju zastupljenost ukupnih slobodnih masnih kiselina u uzorcima posteljica trudnica s tipom 1 šećerne bolesti (**5,19%**) u odnosu na njihovu zastupljenost u uzorcima kontrolne skupine trudnica (**8,51%**). Razlika je bila statistički značajna (**p<0,001****), što ukazuje na statistički značajno manje odlaganje

slobodnih masnih kiselina u posteljice istraživane skupine trudnica. Sljedeća određivana skupina prema zastupljenosti u ukupnim lipidima bila je skupina ukupnih kolesterol-estera. Grafički je prikazana statistički značajno manja zastupljenost ove skupine lipida u uzorcima posteljica trudnica s tipom 1 šećerne bolesti (**2,48%**) u odnosu na zastupljenost ukupnih kolesterol-estera u uzorcima posteljica kontrolne skupine trudnica (**3,67%**). Razlika je bila statistički značajna (**p<0,001****), što ukazuje na statistički značajno manje odlaganje kolesterol-estera u posteljice istraživane skupine trudnica. Posljednja skupina lipida su bili ukupni triacilgliceroli/trigliceridi. Ukupni triacilgliceroli/trigliceridi su bili manje zastupljeni u uzorcima posteljica trudnica s tipom 1 šećerne bolesti (2,28%) u odnosu na njihovu zastupljenost u uzorcima posteljica kontrolne skupine trudnica (2,52%). Razlika nije bila statistički značajna.

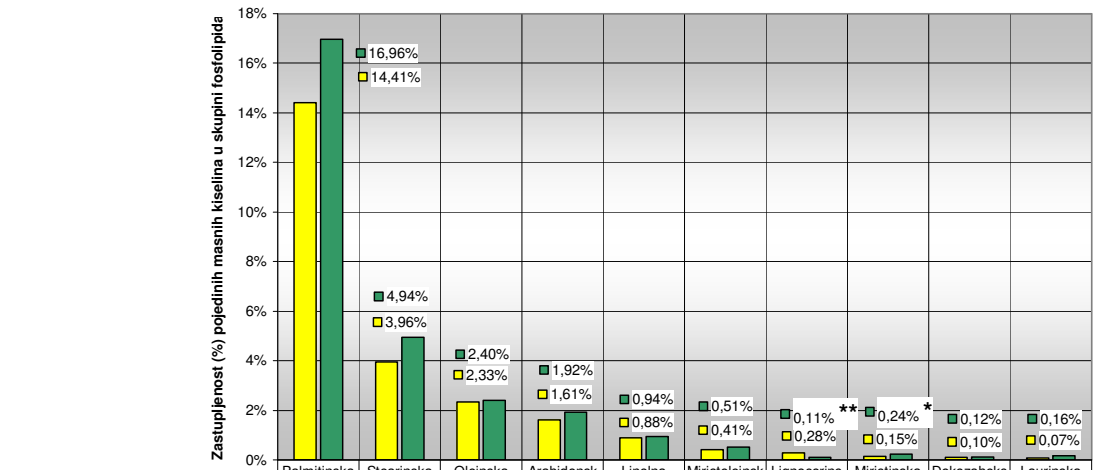


Graf 2: Zastupljenost (%) pojedinih masnih kiselina u ukupnim lipidima

Grafikon br.2 prikazuje zastupljenost (%) pojedinih masnih kiselina u ukupnim lipidima. Na apscisi je prikazano deset određivanih masnih kiselina, od najzastupljenije do najmanje zastupljene masne kiseline. Na ordinati je izražen postotak zastupljenosti svake pojedine masne kiseline. Zelenom bojom su označeni uzorci istraživane skupine trudnica s tipom 1 šećerne bolesti, a žutom bojom uzorci kontrolne skupine trudnica.

Statistički značajna razlika u zastupljenosti je postojala samo za zastupljenost laurinske 12:0 masne kiseline u ukupnim lipidima. Najzastupljenija masna kiselina u ukupnim lipidima je bila palmitinska 16:0 masna kiselina. Manja zastupljenost ove masne kiseline bila je u trudnica s tipom 1 šećerne bolesti (45,09%) u odnosu na zastupljenost ove masne kiseline u kontrolnoj skupini trudnica (45,63%). Razlika nije bila statistički značajna (p>0,05). Slijedeća po redosljedu je bila stearinska 18:0 masna kiselina, koja je bila manje zastupljena u trudnica s tipom 1 šećerne bolesti (13,15%) u odnosu na zastupljenost ove masne kiseline u kontrolnoj skupini trudnica (16,02%). Razlika nije bila statistički značajna (p>0,05). Ukupna oleinska 18:1 masna kiselina je bila manje zastupljena u trudnica s tipom 1 šećerne bolesti (11,83%) u odnosu na zastupljenost ove masne kiseline u kontrolnoj skupini trudnica (12,06%). Razlika nije bila statistički značajna (p>0,05). Arahidonska 20:4 masna kiselina je bila manje zastupljena u trudnica s tipom 1 šećerne bolesti (8,49%) u odnosu na zastupljenost ove masne kiseline u kontrolnoj skupini trudnica (9,97%). Razlika nije bila statistički značajna (p>0,05). Linolna 18:2 masna kiselina je bila manje zastupljena u trudnica s tipom 1 šećerne bolesti (6,68%) u odnosu na zastupljenost ove masne kiseline u kontrolnoj skupini trudnica (7,13%). Razlika nije bila statistički značajna (p>0,05). Slijedila je zastupljenost dokozaheksaenske 22:6 masne kiseline, koja je bila manje zastupljena u trudnica s tipom 1 šećerne bolesti (1,40%) u odnosu na zastupljenost ove masne kiseline u kontrolnoj skupini trudnica (1,69%). Razlika nije bila statistički značajna (p>0,05). Miristoleinska 14:1 masna kiselina je bila manje zastupljena u uzorcima posteljica trudnica s tipom 1 šećerne bolesti (0,71%), nego u uzorcima posteljica kontrolne skupine trudnica (0,82%). Razlika nije bila statistički značajna (p>0,05). Slijedila je lignocerinska 24:0 masna kiselina, koja je bila više zastupljena u uzorcima posteljica trudnica s tipom 1 šećerne bolesti (0,92%) u odnosu na njenu manju zastupljenost u uzorcima kontrolne skupine trudnica (0,77%), međutim bez statistički značajne razlike (p>0,05). Veća je bila i zastupljenost miristinske 14:0 masne kiseline u uzorcima posteljica istraživane skupine trudnica (0,57%), dok je njena zastupljensot u uzorcima kontrolne skupine trudnica (0,47%) bila manja. Razlika nije bila statistički značajna (p>0,05). Posljednja i najmanje zastupljena u ukupnim lipidima je bila laurinska 12:0 masna kiselina, koja je imala statistički značajno veću zastupljenost u

uzorcima posteljica trudnica s tipom 1 šećerne bolesti (**0,28%**) u odnosu na njenu manju zatsupljenost u uzorcima kontrolne skupine trudnica (**0,10%**). Razlika je bila statistički značajna (**p<0,05**).



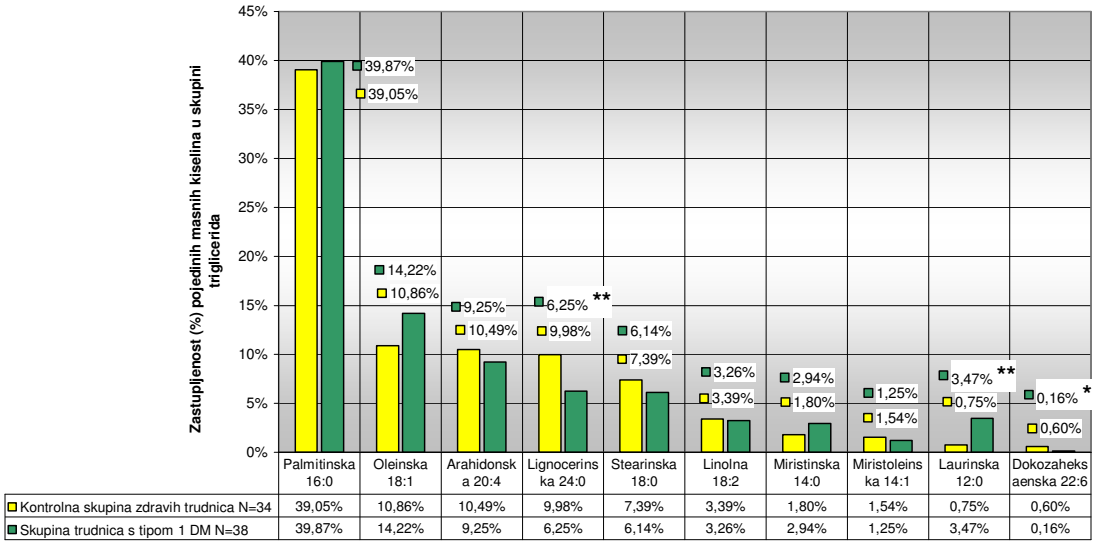
	Palmitinska 16:0	Stearinska 18:0	Oleinska 18:1	Arahidonska 20:4	Linolna 18:2	Miristoleinska 14:1	Lignocerinska 24:0	Miristinska 14:0	Dokozaheksaenska 22:6	Laurinska 12:0
Kontrolna skupina zdravih trudnica N=34	14,41%	3,96%	2,33%	1,61%	0,88%	0,41%	0,28%	0,15%	0,10%	0,07%
Skupina trudnica s tipom 1 DM N=38	16,96%	4,94%	2,40%	1,92%	0,94%	0,51%	0,11%	0,24%	0,12%	0,16%

Graf 3: Zastupljenost (%) pojedinih masnih kiselina u skupini fosfolipida

Grafikon br.3 prikazuje zastupljenost (%) određivanih masnih kiselina u skupini fosfolipida. Na apscisi je prikazano deset masnih kiselina, od najzastupljenije do najmanje zastupljene masne kiseline. Na ordinati je izražen postotak zastupljenosti svake pojedine masne kiseline. Zelenom bojom su označeni uzorci istraživane skupine trudnica s tipom 1 šećerne bolesti, a žutom bojom uzorci kontrolne skupine trudnica. Statistički značajna razlika u zastupljenosti masnih kiselina u skupini fosfolipida bila je za lignocerinsku 24:0 i miristinsku 14:0 masnu kiselinu. Sve određivane masne kiseline u skupini fosfolipida bile su više zastupljene u uzorcima posteljica trudnica s tipom 1 šećerne bolesti, nego u uzorcima posteljica kontrolne skupine trudnica, osim lignocerinske 24:0 masne kiseline. Lignocerinska 24:0 masna kiselina je bila statistički značajno manje zastupljena u uzorcima posteljica trudnica s tipom 1 šećerne bolesti (**0,11%**), nego u uzorcima posteljica kontrolne skupine trudnica (**0,28%**). Razlika je bila statistički značajna (**p<0,001****). Prema zastupljenosti masnih kiselina u skupini

fosfolipida najzastupljenija je bila palmitinska 16:0 masna kiselina. Veća zastupljenost palmitinske 16:0 masne kiseline je bila u trudnica s tipom 1 šećerne bolesti (16,96%) u odnosu na zastupljenost ove masne kiseline u kontrolnoj skupini trudnica (14,41%). Razlika nije bila statistički značajna (p>0,05). Sljedeća masna kiselina je bila stearinska 18:0 masna kiselina, koja je bila više zastupljena u uzorcima posteljica trudnica s tipom 1 šećerne bolesti (4,94%), nego u uzorcima posteljica kontrolne skupine trudnica (3,96%). Razlika nije bila statistički značajna (p>0,05). Oleinska 18:1 masna kiselina je bila zastupljenija u uzorcima posteljica trudnica s tipom 1 šećerne bolesti (2,40%) u odnosu na njenu zastupljenost u uzorcima posteljica kontrolne skupine trudnica (2,33%), ali bez statistički značajne razlike (p>0,05). Arahidnoska 20:4 masna kiselina je bila zastupljenija u uzorcima posteljica trudnica s tipom 1 šećerne bolesti (1,92%), nego u uzorcima posteljica kontrolne skupine trudnica (1,61%). Razlika nije bila statistički značajna (p>0,05). Linolna 18:2 masna kiselina je bila zastupljenija u istraživanoj skupini trudnica, tako da je u uzorcima posteljica trudnica s tipom 1 šećerne bolesti (0,94%) bilo više spomenute masne kiseline, nego u uzorcima posteljica kontrolne skupine trudnica (0,88%). Razlika nije bila statistički značajna (p>0,05). Miristoleinska 14:1 masna kiselina je bila zastupljenija u uzorcima posteljica trudnica s tipom 1 šećerne bolesti (0,51%), nego u uzorcima posteljica kontrolne skupine trudnica (0,41%). Razlika nije bila statistički značajna (p>0,05). Veća zastupljenost je bila i miristinske 14:0 masne kiseline u uzorcima posteljica trudnica s tipom 1 šećerne bolesti (**0,24%**), nego u uzorcima posteljica kontrolne skupine trudnica (**0,15%**). Razlika je bila statistički značajna na razini 95% točnosti. Miristinska 14:0 masna kiselina u skupini fosfolipida je bila statistički značajno više zastupljena u posteljicama istraživane skupine trudnica (**p<0,05***), nego u kontrolnoj skupini trudnica. Najmanje zastupljene od svih masnih kiselina u skupini fosfolipida su bile dokozaheksaenska 22:6 i laurinska 12:0 masna kiselina. Dokozaheksaenska 22:6 masna kiselina je bila zastupljenija u uzorcima posteljica trudnica s tipom 1 šećerne bolesti (0,12%) u odnosu na manju zatsupljenost ove masne kiseline u uzorcima posteljica kontrolne skupine trudnica (0,10%). Razlika nije bila statistički značajna (p>0,05). Posljednja prema zastupljenosti u skupini fosfolipida je bila laurinska 12:0 masna kiselina. Prisutnost ove masne kiseline je bila veća u uzorcima posteljica

trudnica s tipom 1 šećerne bolesti (0,16%), nego njena zastupljenost u uzorcima posteljica kontrolne skupine trudnica (0,07%). Razlika nije bila statistički značajna (p>0,05).

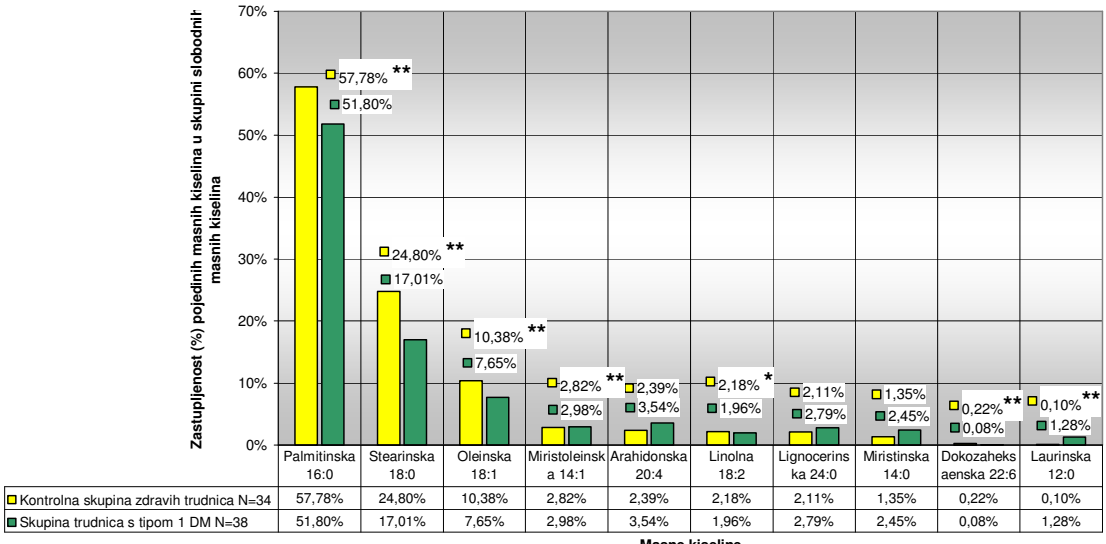


	Palmitinska 16:0	Oleinska 18:1	Arahidonska 20:4	Lignocerinska 24:0	Stearinska 18:0	Linolna 18:2	Miristinska 14:0	Miristoleinska 14:1	Laurinska 12:0	Dokozaheksaenska 22:6
Kontrolna skupina zdravih trudnica N=34	39,05%	10,86%	10,49%	9,98%	7,39%	3,39%	1,80%	1,54%	0,75%	0,60%
Skupina trudnica s tipom 1 DM N=38	39,87%	14,22%	9,25%	6,25%	6,14%	3,26%	2,94%	1,25%	3,47%	0,16%

Graf 4: Zastupljenost (%) pojedinih masnih kiselina u skupini triglicerida

Grafikon br.4 prikazuje zastupljenost (%) određivanih masnih kiselina u skupini triacilglicerola/triglicerida. Na apscisi je prikazano deset masnih kiselina, od najzastupljenije do manje zastupljenih masnih kiselina. Na ordinati je izražen postotak zastupljenosti svake pojedine masne kiseline. Zelenom bojom su označeni uzorci istraživane skupine trudnica s tipom 1 šećerne bolesti, a žutom bojom uzorci kontrolne skupine trudnica. Statistički značajna razlika je postojala u zastupljenosti lignocerinske 24:0, laurinske 12:0 i dokozaheksaenske masne kiseline. Najzastupljenija masna kiselina u skupini triglicerida je bila palmitinska 16:0 masna kiselina. U uzorcima posteljica istraživane skupine trudnica palmitinska 16:0 je masna kiselina bila više zastupljena nego u uzorcima kontrolne skupine trudnica. Trudnice s tipom 1 šećerne bolesti (39,87%) imale su veću zastupljenost ove masne kiseline, nego uzorci posteljica kontrolne skupine trudnica (39,05%). Razlika nije bila statistički značajna (p>0,05). Prema zastupljenosti slijedeća je bila oleinska 18:1 masna kiselina. Uzorci posteljica trudnica s tipom 1 šećerne bolesti (14,22%) imale su veću zastupljenost ove masne

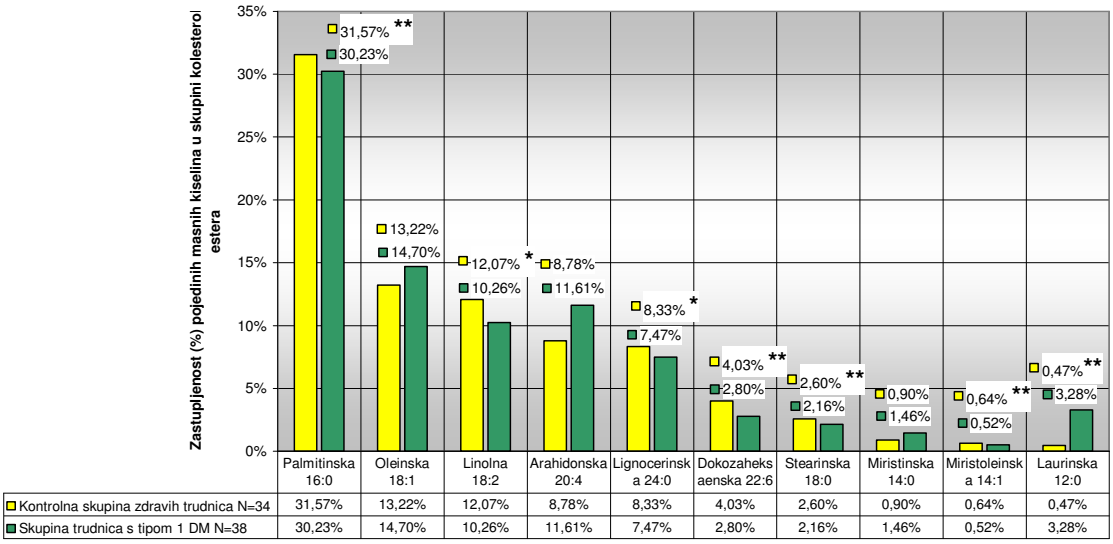
kiseline, nego uzorci posteljica kontrolne skupine trudnica (10,86%). Razlika nije bila statistički značajna (p>0,05). Arahidonska 20:4 masna kiselina je bila manje zastupljena u uzorcima posteljica trudnica s tipom 1 šećerne bolesti (9,25%), a više zastupljena u uzorcima posteljica kontrolne skupine trudnica (10,49%). Razlika nije bila statistički značajna. Lignocerinska 24:0 masna kiselina je bila statistički značajno manje zastupljena u uzorcima posteljica trudnica s tipom 1 šećerne bolesti (**6,25%**) u odnosu na njenu zastupljenost u uzorcima kontrolne skupine trudnica (**9,98%**). Razlika je bila statistički značajna (**p<0,001****). Manje zastupljena u istraživanoj skupini trudnica je bila i stearinska 18:0 masna kiselina. Trudnice s tipom 1 šećerne bolesti (6,14%) imale su manje stearinske 18:0 masne kiseline zastupljene u skupini triglicerida, dok su uzorci trudnica kontrolne skupine (7,39%) imale više stearinske 18:0 masne kiseline. Razlika nije bila statistički značajna (p>0,05). Linolna 18:2 masna kiselina je bila manje zastupljena u uzorcima posteljica trudnica s tipom 1 šećerne bolesti (3,26%), nego u uzorcima posteljica kontrolne skupine trudnica (3,39%). Razlika nije bila statistički značajna (p>0,05). Miristinska 14:0 masna kiselina je bila više zastupljena u uzorcima posteljica trudnica s tipom 1 šećerne bolesti (2,94%), nego u uzorcima kontrolne skupine trudnica (1,80%). Razlika nije bila statistički značajna (p>0,05). Miristoleinska 14:1 masna kiselina je bila manje zastupljena u uzorcima posteljica trudnica s tipom 1 šećerne bolesti (1,25%), a više zastupljena u uzorcima kontrolne skupine trudnica (1,54%), ali bez statistički značajne razlike (p>0,05). Posljednje dvije masne kiseline sa statistički značajnom razlikom u zastupljenosti istraživane i kontrolne skupine trudnica bile su laurinska 12:0 i dokozaheksaenska 22:6 masna kiselina. Laurinska 12:0 masna kiselina je bila statistički značajno više zastupljena u uzorcima posteljica trudnica s tipom 1 šećerne bolesti (**3,47%**), nego u uzorcima posteljica kontrolne skupine trudnica (**0,75%**). Razlika je bila statistički značajna na razini 99% (**p<0,001****). Dokozaheksaenska 22:6 masna kiselina je bila statistički značajno manje zastupljena u uzorcima posteljica trudnica s tipom 1 šećerne bolesti (**0,16%**) u odnosu na zatsupljenost ove masne kiseline u uzorcima kontrolne skupine trudnica (**0,60%**). Razlika je bila statistički značajna na razini 95% (**p<0,05***).



Graf 5: Zastupljenost (%) pojedinih masnih kiselina u skupini slobodnih masnih kiselina

Grafikon br.5 prikazuje zastupljenost (%) određivanih masnih kiselina u skupini slobodnih masnih kiselina. Masne kiseline su prikazane u grafikonu prema postotku zastupljenosti. Na apscisi je prikazano deset masnih kiselina, od najzastupljenije do najmanje zastupljene masne kiseline. Na ordinati je izražen postotak (%) svake pojedine masne kiseline za istraživanu i kontrolnu skupinu trudnica. Zelenom bojom su označeni uzorci istraživane skupine trudnica s tipom 1 šećerne bolesti, a žutom bojom uzorci kontrolne skupine trudnica. Statistički značajna razlika u zastupljenosti masnih kiselina u skupini slobodnih masnih kiselina bila je prisutna kod 7 masnih kiselina, dok za tri masne kiseline razlika nije bila statistički značajna. Najzastupljenija masna kiselina u ovoj skupini lipida je bila palmitinska 16:0 masna kiselina, koja je u uzorcima posteljica trudnica s tipom 1 šećerne bolesti (**51,80%**) bila statistički značajno manje zastupljena, nego u uzorcima kontrolne skupine trudnica (**57,78%**). Razlika je bila statistički značajna (**p<0,001****). Stearinska 18:0 masna kiselina je bila statistički značajno manje zastupljena u uzorcima posteljica trudnica s tipom 1 šećerne bolesti (**17,01%**), nego njena zastupljenost u uzorcima kontrolne skupine trudnica (**24,80%**). Razlika je bila statistički značajna (**p<0,001****). Oleinska 18:1 masna kiselina je bila statistički značajno manje zastupljena u uzorcima posteljica trudnica s tipom 1 šećerne bolesti (**7,65%**), nego njena zastupljenost u uzorcima kontrolne

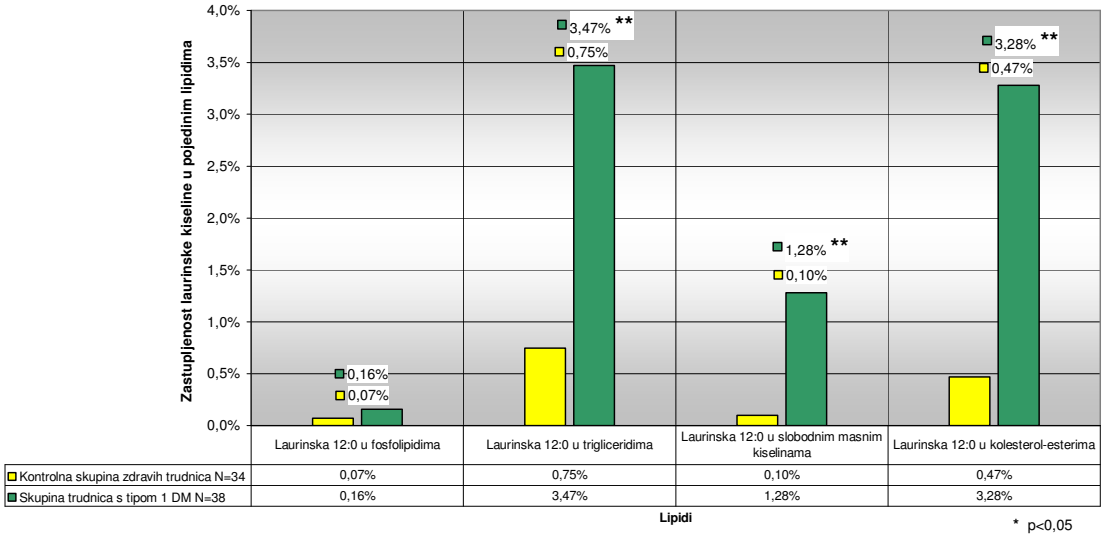
skupine trudnica (**10,38%**). Razlika je bila statistički značajna (**p<0,001**[**]). Miristoleinska 14:1 masna kiselina je bila statistički značajno više zastupljena u uzorcima posteljica trudnica s tipom 1 šećerne bolesti (**2,98%**), nego njena zastupljenost u uzorcima kontrolne skupine trudnica (**2,82%**). Razlika je bila statistički značajna (**p<0,001**[**]), te je bilo statistički značajno više ove masne kiseline u posteljicama trudnica istraživane skupine. Arahidonska 20:4 masna kiselina je bila više zastupljena u skupini slobodnih masnih kiselina u uzorcima posteljica trudnica s tipom 1 šećerne bolesti (3,54%), nego njena zastupljenost u uzorcima kontrolne skupine trudnica (2,39%), međutim bez statistički značajne razlike (p>0,05). Linolna 18:2 masna kiselina je bila statistički značajno manje zastupljena u uzorcima posteljica trudnica s tipom 1 šećerne bolesti (**1,96%**), nego njena zastupljenost u uzorcima kontrolne skupine trudnica (**2,18%**). Razlika je bila statistički značajna na razini 95% (**p<0,05**[*]). Lignocerinska 24:0 masna kiselina je bila više zastupljena u skupini slobodnih masnih kiselina u uzorcima posteljica trudnica s tipom 1 šećerne bolesti (2,79%), nego njena zastupljenost u uzorcima kontrolne skupine trudnica (2,11%), međutim bez statistički značajne razlike (p>0,05). Miristinska 14:0 masna kiselina je bila više zastupljena u skupini slobodnih masnih kiselina u uzorcima posteljica trudnica s tipom 1 šećerne bolesti (2,45%), nego njena zastupljenost u uzorcima kontrolne skupine trudnica (1,35%), međutim bez statistički značajne razlike (p>0,05). Posljednje dvije masne kiseline bile su zastupljene sa statistički značajnom razlikom u uzorcima istraživane i kontrolne skupine trudnica. Tako je dokozaheksaenska 22:6 masna kiselina bila statistički značajno manje zastupljena u uzorcima posteljica trudnica s tipom 1 šećerne bolesti (**0,08%**), nego u uzorcima kontrolne skupine trudnica (**0,22%**). Razlika je bila statistički značajna (**p<0,001**[**]). Laurinska 12:0 masna kiselina je bila statistički značajno više zastupljena u uzorcima posteljice trudnica s tipom 1 šećerne bolesti (**1,28%**), nego u uzorcima posteljica kontrolne skupine trudnica (**0,10%**). Razlika je bila statistički značajna (**p<0,001**[**]).



Graf 6: Zastupljenost (%) pojedinih masnih kiselina u skupini kolesterol-estera

Grafikon br.6 prikazuje zastupljenost (%) određivanih masnih kiselina u skupini kolesterol-estera. Masne kiseline su prikazane u grafikonu prema postotku zastupljenosti. Na apscisi je prikazano deset masnih kiselina, od najzastupljenije do najmanje zastupljene masne kiseline. Na ordinati je izražen postotak (%) svake pojedine masne kiseline za istraživanu i kontrolnu skupinu trudnica. Zelenom bojom su označeni uzorci istraživane skupine trudnica s tipom 1 šećerne bolesti, a žutom bojom uzorci kontrolne skupine trudnica. Statistički značajna razlika u zastupljenosti masnih kiselina u skupini kolesterol-estera bila je prisutna kod 7 masnih kiselina, dok za tri masne kiseline razlika nije bila statistički značajna. Najzastupljenija masna kiselina u ovoj skupini lipida je bila palmitinska 16:0 masna kiselina, koja je u uzorcima posteljica trudnica s tipom 1 šećerne bolesti (**30,23%**) bila statistički značajno manje zastupljena, nego u uzorcima kontrolne skupine trudnica (**31,57%**). Razlika je bila statistički značajna (**p<0,001****). Slijedeća po zastupljenosti je bila oleinska 18:1 masna kiselina, koja je bila više zastupljena u uzorcima posteljica trudnica s tipom 1 šećerne bolesti (14,70%), nego u uzorcima posteljica kontrolne skupine trudnica (13,22%). Nije bilo statistički značajno više ove masne kiseline u uzorcima istraživane skupine trudnica (p>0,05). Slijedeća je bila linolna 18:2 masna kiselina, koja je bila statistički značajno manje zastupljena u uzorcima posteljica trudnica s tipom 1 šećerne bolesti

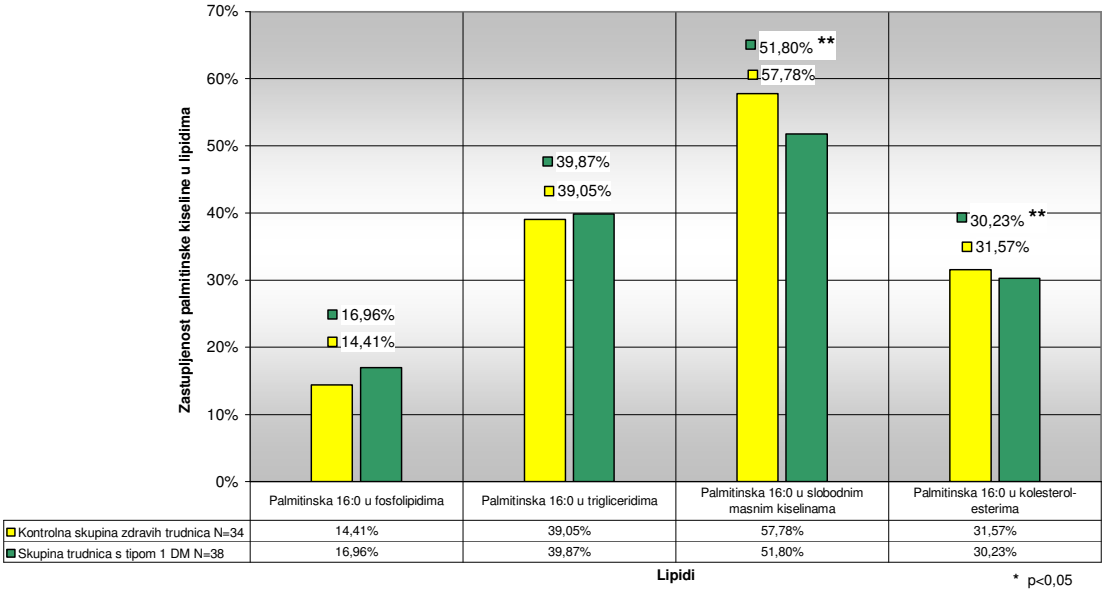
(**10,26%**), nego u uzorcima posteljica kontrolne skupine trudnica (**12,07%**). Razlika je bila statistički značajna (**p<0,05***), te je značajno manje ove masne kiseline bilo zastupljeno u uzorcima istraživane skupine trudnica (p>0,05). Arahidonska 20:4 masna kiselina je bila zastupljenija u uzorcima posteljica trudnica s tipom 1 šećerne bolesti (11,61%), nego u uzorcima posteljica kontrolne skupine trudnica (8,78%). Razlika nije bila statistički značajna (p>0,05). Lignocerinska 24:0 masna kiselina je bila statistički značajno manje zastupljena u uzorcima posteljica trudnica s tipom 1 šećerne bolesti (**7,47%**), nego u uzorcima kontrolne skupine trudnica (**8,33%**). Statistički značajno manje je bilo ove masne kiseline u uzorcima istraživane skupine trudnica (**p<0,05***). Dokozaheksaenska 22:6 masna kiselina je bila statistički značajno manje zastupljena u uzorcima posteljica trudnica s tipom 1 šećerne bolesti (**2,80%**), nego u uzorcima kontrolne skupine trudnica (**4,03%**). Statistički značajno manje je bilo ove masne kiseline u uzorcima istraživane skupine trudnica (**p<0,001****). Slično je bilo i sa stearinskom 18:0 masnom kiselinom, koja je bila statistički značajno manje zastupljena u uzorcima posteljica trudnica s tipom 1 šećerne bolesti (**2,16%**), nego u uzorcima kontrolne skupine trudnica (**2,60%**). Statistički značajno manje je bilo ove masne kiseline u uzorcima istraživane skupine trudnica (**p<0,001****). U slučaju miristinske 14:0 masne kiseline je postojala razlika koja nije bila statistički značajna. Tako je miristinska 14:0 masna kiselina bila više zastupljena u uzorcima posteljica trudnica s tipom 1 šećerne bolesti (1,46%), nego u uzorcima kontrolne skupine trudnica (0,90%), ali razlika nije bila statistički značajna (p>0,05%). Miristoleinska 14:1 masna kiselina je bila statistički značajno manje zastupljena u uzorcima posteljica trudnica s tipom 1 šećerne bolesti (**0,52%**), nego u uzorcima kontrolne skupine trudnica (**0,64%**). Statistički značajno manje je bilo ove masne kiseline u uzorcima istraživane skupine trudnica (**p<0,001****). Posljednja je bila laurinska 12:0 masna kiselina koja je bila statistički značajno više zastupljena u uzorcima posteljica trudnica s tipom 1 šećerne bolesti (**3,28%**), nego u uzorcima kontrolne skupine trudnica (**0,47%**). Razlika je bila statistički značajna (**p<0,001****), te je značajno više ove masne kiseline bilo zastupljeno u posteljicama istraživane skupine trudnica.



Graf 7: Zastupljenost laurinske kiseline u pojedinim lipidima

Grafikon br.7 prikazuje zastupljenost (%) laurinske 12:0 masne kiseline u pojedinim skupinama lipida. Laurinska 12:0 masna kiselina je prikazana u grafikonu prema postotku zastupljenosti. Na apscisi je prikazana laurinska 12:0 masna kiselina u skupini fosfolipida, skupini triacilglicerola/triglicerida, skupini slobodnih masnih kiselina i skupini kolesterol-estera za istraživanu i kontrolnu skupinu trudnica. Na ordinati je izražen postotak (%) laurinske 12:0 masne kiseline u spomenutim skupinama lipida. Zelenom bojom su označeni uzorci istraživane skupine trudnica s tipom 1 šećerne bolesti, a žutom bojom uzorci kontrolne skupine trudnica. Statistički značajna razlika u zastupljenosti laurinske 12:0 masne kiseline bila je u tri skupine lipida, u skupini triacilglicerola/triglicerida, u skupini slobodnih masnih kiselina i skupini kolesterol-estera. Postojala je i razlika u zastupljenosti ove masne kiseline u skupini fosfolipida, ali bez statistički značajne razlike. Laurinska 12:0 masna kiselina je prema skupinama lipida bila najzastupljenija u skupini triacilglicerola/triglicerida. Zatsupljenost ove masne kiseline je bila statistički značajno veća u uzorcima posteljica trudnica s tipom 1 šećerne bolesti (**3,47%**) u odnosu na njenu zastupljenost u uzorcima posteljica kontrolne skupine trudnica (**0,75%**). U skupini triacilglicerola/triglicerida je bilo statistički značajno više laurinske 12:0 masne kiseline zastupljeno u posteljicama istraživane skupine trudnica, nego u posteljicama kontrolne skupine trudnica

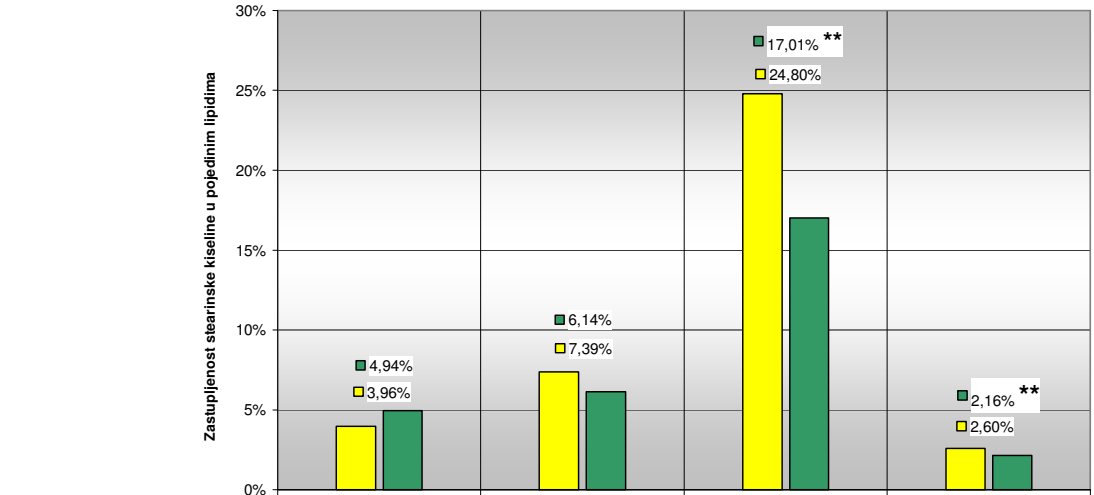
(**p<0,001****). Sljedeća skupina lipida prema zastupljenosti laurinske 12:0 masne kiseline bila je skupina kolesterol-estera. U skupini kolesterol-estera je bilo statistički značajno više laurinske 12:0 masne kiseline zastupljeno u posteljicama istraživane skupine trudnica (**3,28%**), nego u posteljicama kontrolne skupine trudnica (**0,47%**), razlika je bila statistički značajna (**p<0,001****). U skupini slobodnih masnih kiselina je bilo statistički značajno više laurinske 12:0 masne kiseline zastupljeno u posteljicama istraživane skupine trudnica (**1,28%**), nego u posteljicama kontrolne skupine trudnica (**0,10%**), razlika je bila statistički značajna (**p<0,001****). U posljednjoj skupini lipida, u fosfolipidima zastupljenost laurinske 12:0 masne kiseline je bila veća u uzorcima posteljica trudnica s tipom 1 šećerne bolesti (0,16%), nego u uzorcima kontrolne skupine trudnica (0,07%). Razlika u zastupljenosti laurinske 12:0 masne kiseline u skupini fosfolipida nije bila statistički značajna u istraživanoj i kontrolnoj skupini trudnica (p>0,05).



Graf 8: Zastupljenost palmitinske kiseline u lipidima

Grafikon br.8 prikazuje zastupljenost (%) palmitinske 16:0 masne kiseline u pojedinim skupinama lipida. Palmitinska 16:0 masna kiselina je prikazana u grafikonu prema postotku zastupljenosti. Na apscisi je prikazana palmitinska 16:0 masna kiselina u skupini fosfolipida, skupini triacilglicerola/triglicerida, skupini slobodnih masnih

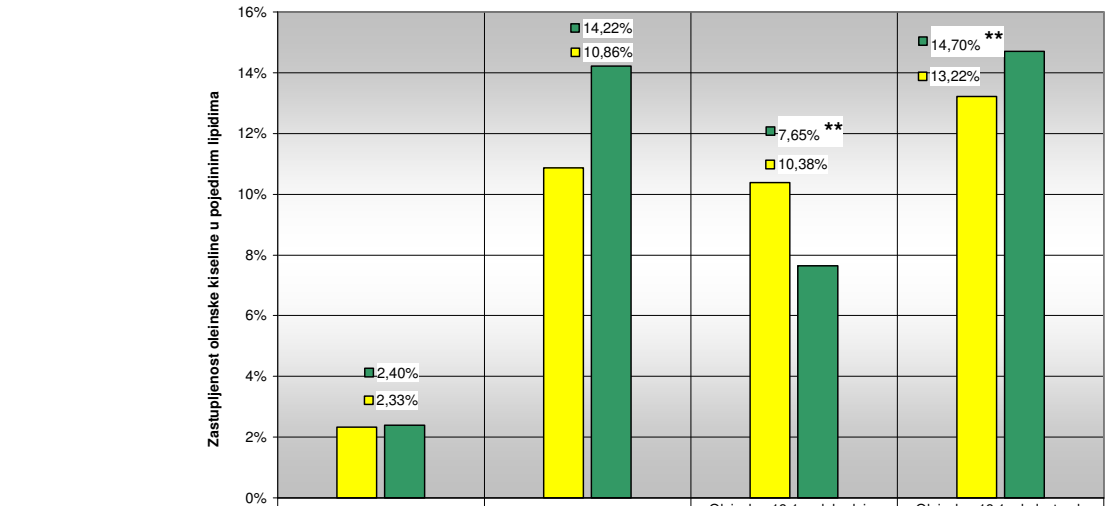
kiselina i skupini kolesterol-estera za istraživanu i kontrolnu skupinu trudnica. Na ordinati je izražen postotak (%) palmitinske 16:0 masne kiseline u spomenutim skupinama lipida. Zelenom bojom su označeni uzorci istraživane skupine trudnica s tipom 1 šećerne bolesti, a žutom bojom uzorci kontrolne skupine trudnica. Statistički značajna razlika u zastupljenosti palmitinske 16:0 masne kiseline bila je u dvije skupine lipida u skupini slobodnih masnih kiselina i skupini kolesterol-estera. Postojala je i razlika u zastupljenosti ove masne kiseline u skupini fosfolipida i skupini slobodnih masnih kiselina, ali bez statistički značajne razlike. Najveća zastupljenost palmitinske 16:0 masne kiseline je bila prema skupinama lipida u skupini slobodnih masnih kiselina, zatim u skupini triacilglicerola/triglicerida, skupini kolesterol-estera i najmanje je bila zastupljena u skupini fosfolipida. U skupini slobodnih masnih kiselina palmitinska 16:0 je masna kiselina bila statistički značajno manje zastupljena u uzorcima posteljica trudnica s tipom 1 šećerne bolesti (**51,80%**), dok je u uzorcima posteljica kontrolne skupine trudnica (**57,78%**) bila više zastupljena. Razlika je bila statistički značajna na razini 99% (**p<0,001****). U skupini triacilglicerola/triglicerida palmitinska 16:0 je masna kiselina bila više zastupljena u uzorcima posteljica trudnica s tipom 1 šećerne bolesti (39,87%), dok je u uzorcima posteljica kontrolne skupine trudnica (39,05%) bila manje zastupljena. Razlika nije bila statistički značajna (p>0,05). U skupini kolesterol-estera palmitinska 16:0 je masna kiselina bila statistički značajno manje zastupljena u uzorcima posteljica trudnica s tipom 1 šećerne bolesti (**30,23%**), dok je u uzorcima posteljica kontrolne skupine trudnica (**31,57%**) bila više zastupljena. Razlika je bila statistički značajna (**p<0,001****). U posljednjoj skupini lipida, u fosfolipidima palmitinska 16:0 je masna kiselina bila više zastupljena u uzorcima posteljica trudnica s tipom 1 šećerne bolesti (16,96%), nego u uzorcima posteljica kontrolne skupine trudnica (14,41%), gdje je bila manje zastupljena. Razlika nije bila statistički značajna (p>0,05).



Graf 9: Zastupljenost stearinske kiseline u pojedinim lipidima

Grafikon br.9 prikazuje zastupljenost (%) stearinske 18:0 masne kiseline u pojedinim skupinama lipida. Stearinska 18:0 masna kiselina je prikazana u grafikonu prema postotku zastupljenosti. Na apscisi je prikazana stearinska 18:0 masna kiselina u skupini fosfolipida, skupini triacilglicerola/triglicerida, skupini slobodnih masnih kiselina i skupini kolesterol-estera za istraživanu i kontrolnu skupinu trudnica. Na ordinati je izražen postotak (%) stearinske 18:0 masne kiseline u spomenutim skupinama lipida. Zelenom bojom su označeni uzorci istraživane skupine trudnica s tipom 1 šećerne bolesti, a žutom bojom uzorci kontrolne skupine trudnica. Statistički značajna razlika u zastupljenosti stearinske 18:0 masne kiseline bila je u dvije skupine lipida u skupini slobodnih masnih kiselina i skupini kolesterol-estera. Postojala je i razlika u zastupljenosti ove masne kiseline u skupini fosfolipida i skupini slobodnih masnih kiselina, ali bez statistički značajne razlike. Najveća zastupljenost stearinske 18:0 masne kiseline je bila prema skupinama lipida u skupini slobodnih masnih kiselina, zatim u skupini triacilglicerola/triglicerida, skupini fosfolipida i skupini kolesterol-estera. U skupini slobodnih masnih kiselina stearinska 18:0 je masna kiselina bila statistički značajno manje zastupljena u uzorcima posteljica trudnica s tipom 1 šećerne bolesti (**17,01%**), dok je u uzorcima posteljica kontrolne skupine trudnica (**24,80%**) bila više zastupljena. Razlika je bila statistički značajna na razini

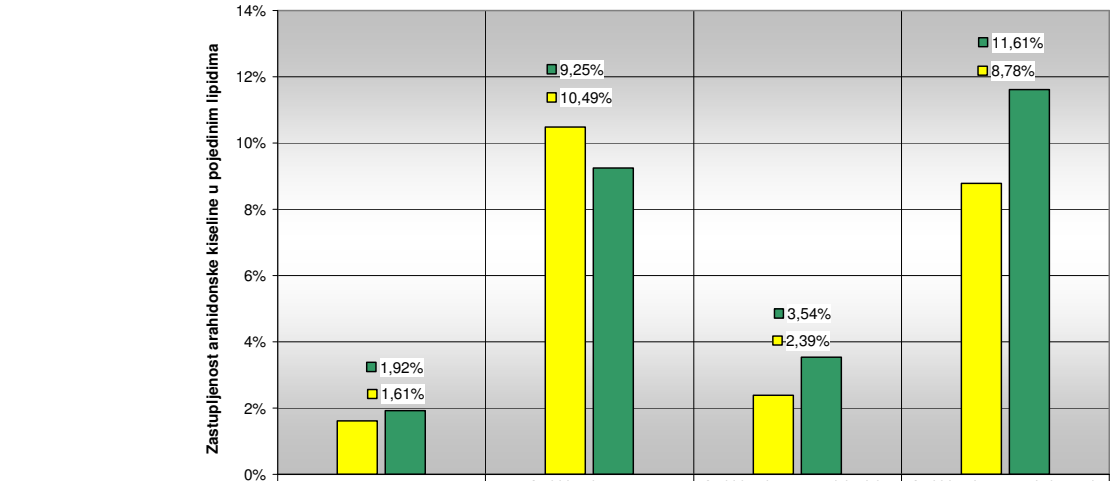
99% (**p<0,001****), te je bilo statistički značajno manje stearinske 18:0 masne kiseline u posteljicama istraživane skupine trudnica. U skupini triacilglicerola/triglicerida stearinska 18:0 je masna kiselina bila manje zastupljena u uzorcima posteljica trudnica s tipom 1 šećerne bolesti (6,14%), dok je u uzorcima posteljica kontrolne skupine trudnica (7,39%) bila više zastupljena. Razlika nije bila statistički značajna (p>0,05). U skupini fosfolipida stearinska 18:0 je masna kiselina bila više zastupljena u uzorcima posteljica trudnica s tipom 1 šećerne bolesti (4,94%), nego u uzorcima posteljica kontrolne skupine trudnica (3,96%), gdje je bila manje zastupljena. Razlika nije bila statistički značajna (p>0,05). U skupini kolesterol-estera stearinska 18:0 je masna kiselina bila statistički značajno manje zastupljena u uzorcima posteljica trudnica s tipom 1 šećerne bolesti (**2,16%**), dok je u uzorcima posteljica kontrolne skupine trudnica (**2,60%**) bila više zastupljena. Razlika je bila statistički značajna (**p<0,001****), te je bilo statistički značajno manje stearinske 18:0 masne kiseline u posteljicama istraživane skupine trudnica.



Graf 10: Zastupljenost oleinske kiseline u pojedinim lipidima

Grafikon br.10 prikazuje zastupljenost (%) oleinske 18:1 masne kiseline u pojedinim skupinama lipida. Oleinska 18:1 masna kiselina je prikazana u grafikonu

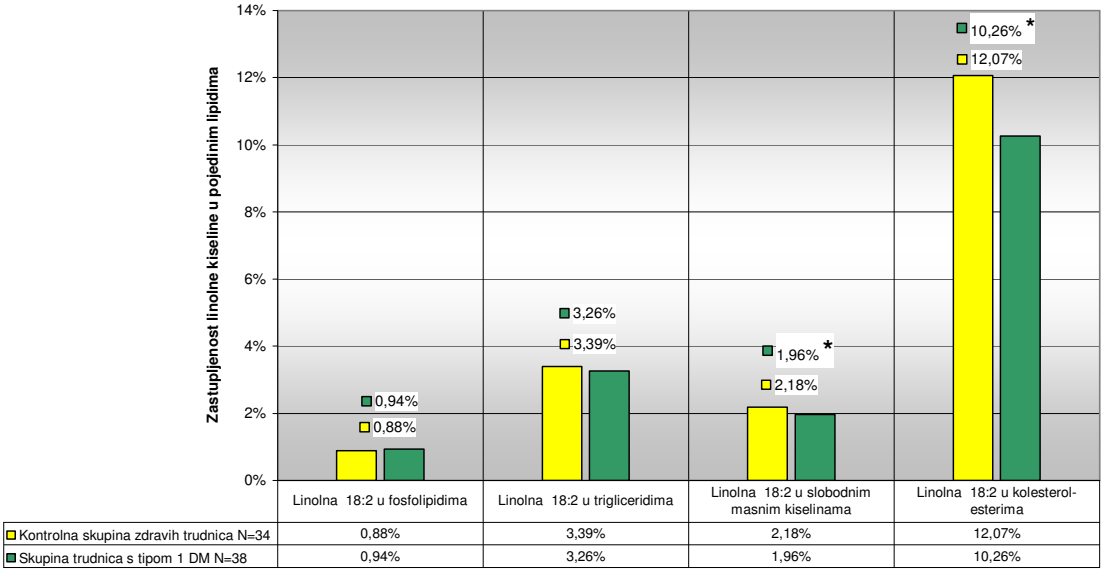
prema postotku zastupljenosti. Na apscisi je prikazana oleinska 18:1 masna kiselina u skupini fosfolipida, skupini triacilglicerola/triglicerida, skupini slobodnih masnih kiselina i skupini kolesterol-estera za istraživanu i kontrolnu skupinu trudnica. Na ordinati je izražen postotak (%) oleinske 18:1 masne kiseline u spomenutim skupinama lipida. Zelenom bojom su označeni uzorci istraživane skupine trudnica s tipom 1 šećerne bolesti, a žutom bojom uzorci kontrolne skupine trudnica. Statistički značajna razlika u zastupljenosti oleinske 18:1 masne kiseline bila je u dvije skupine lipida u skupini slobodnih masnih kiselina i skupini kolesterol-estera. Postojala je i razlika u zastupljenosti ove masne kiseline u skupini fosfolipida i skupini slobodnih masnih kiselina, ali bez statistički značajne razlike. Najveća zastupljenost oleinske 18:1 masne kiseline je bila u skupini kolesterol-estera, zatim u skupini triacilglicerola/triglicerida, slobodnih masnih kiselina, a najmanje u skupini fosfolipida. Oleinska 18:1 masna kiselina je bila statistički značajno više zastupljena u uzorcima posteljica trudnica s tipom 1 šećerne bolesti (**14,70%**), nego u uzorcima posteljica kontrolne skupine trudnica (**13,22%**). Razlika je bila statistički značajna na razini 99% (**p<0,001****). U skupini triacilglicerola/triglicerida bilo je više oleinske 18:1 masne kiseline u uzorcima istraživane skupine trudnica (14,22%), dok je u uzorcima kontrolne skupine trudnica (10,86%) ova masna kiselina bila manje zastupljena. Razlika nije bila statistički značajna (p>0,05). U skupini slobodnih masnih kiselina bilo je statistički značajno manje oleinske 18:1 masne kiseline u uzorcima istraživane skupine trudnica (**7,65%**), nego u uzorcima kontrolne skupine trudnica (**10,38%**). Razlika je bila statistički značajna (**p<0,001****), te je u trudnica s tipom 1šećerne bolesti bilo statistički značajno manje oleinske 18:1 masne kiseline. U fosfolipidima je postojala razlika u zastupljenosti oleinske 18:1 masne kiseline, ali bez statistički značajne razlike. Tako je u uzorcima trudnica s tipom 1 šećerne bolesti bilo nešto više oleinske 18:1 masne kiseline (2,40%), nego u uzorcima posteljica kontrolne skupine trudnica (2,33%). Razlika nije bila statistički značajna (p>0,05).



Graf 11: Zastupljenost arahidonske kiseline u pojedinim lipidima

Grafikon br.11 prikazuje zastupljenost (%) arahidonske 20:4 masne kiseline u pojedinim skupinama lipida. Arahidonska 20:4 masna kiselina je prikazana u grafikonu prema postotku zastupljenosti. Na apscisi je prikazana arahidonska 20:4 masna kiselina u skupini fosfolipida, skupini triacilglicerola/triglicerida, skupini slobodnih masnih kiselina i skupini kolesterol-estera za istraživanu i kontrolnu skupinu trudnica. Na ordinati je izražen postotak (%)arahidonske 20:4 masne kiseline u spomenutim skupinama lipida. Zelenom bojom su označeni uzorci istraživane skupine trudnica s tipom 1 šećerne bolesti, a žutom bojom uzorci kontrolne skupine trudnica. U sve četiri skupine lipida je postojala razlika u zastupljenosti ove masne kiseline u istraživanoj i kontrolnoj skupini trudnica, ali bez statistički značajne razlike. Arahidonska 20:4 masna kiselina je bila najzastupljenija u skupini kolesterol-estera, zatim u skupini triacilglicerola/triglicerida, pa u skupini slobodnih masnih kiselina i najmanje u skupini fosfolipida. U skupini kolesterol-estera arahidonska 20:4 masna kiselina je bila više zastupljena u uzorcima posteljica trudnica s tipom 1 šećerne bolesti (11,61%), a manje zatsupljena u uzorcima kontrolne skupine trudnica (8,78%). Razlika nije bila statistički značajna (p>0,05). U skupini triacilglicerola/triglicerida arahidonska 20:4 masna kiselina je bila manje zastupljena u uzorcima posteljica trudnica s tipom 1 šećerne bolesti (9,25%), a više zastupljena u uzorcima kontrolne skupine trudnica (10,49%). Razlika nije bila statistički značajna (p>0,05). U skupini slobodnih masnih kiselina

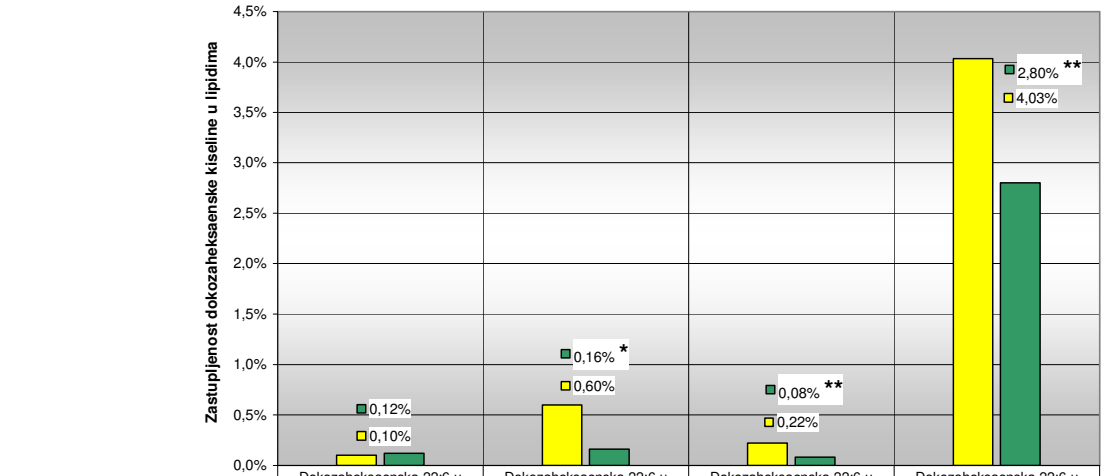
arahidonska 20:4 masna kiselina je bila više zastupljena u uzorcima posteljica trudnica s tipom 1 šećerne bolesti (3,54%), a manje zatsupljena u uzorcima kontrolne skupine trudnica (2,39%). Razlika nije bila statistički značajna (p>0,05). U skupini fosfolipida arahidonska 20:4 masna kiselina je bila više zastupljena u uzorcima posteljica trudnica s tipom 1 šećerne bolesti (1,92%), a manje zatsupljena u uzorcima kontrolne skupine trudnica (1,61%). Razlika nije bila statistički značajna (p>0,05).



Graf 12: Zastupljenost linolne kiseline u pojedinim lipidima

Grafikon br.12 prikazuje zastupljenost (%) linolne 18:2 masne kiseline u pojedinim skupinama lipida. Linolna 18:2 masna kiselina je prikazana u grafikonu prema postotku zastupljenosti. Na apscisi je prikazana linolna 18:2 masna kiselina u skupini fosfolipida, skupini triacilglicerola/triglicerida, skupini slobodnih masnih kiselina i skupini kolesterol-estera za istraživanu i kontrolnu skupinu trudnica. Na ordinati je izražen postotak (%) linolne 18:2 masne kiseline u spomenutim skupinama lipida. Zelenom bojom su označeni uzorci istraživane skupine trudnica s tipom 1 šećerne bolesti, a žutom bojom uzorci kontrolne skupine trudnica. U dvije skupine lipida je postojala razlika u zastupljenosti ove masne kiseline u istraživanoj i kontrolnoj skupini trudnica sa statistčki značajnom razlikom na razini 95% (**p<0,05***), dok u preostale dvije skupine nije bilo statistički značajne razlike. Linolna 18:2 masna

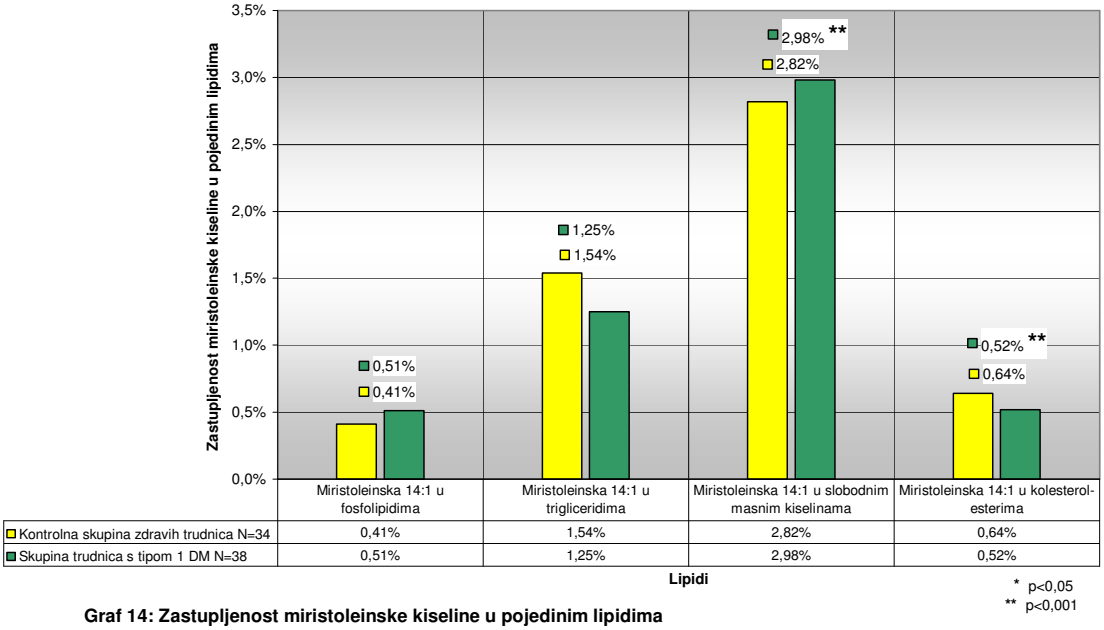
kiselina je bila najzastupljenija u skupini kolesterol-estera. Uzorci posteljica s tipom 1 šećerne bolesti (**10,26%**) imali su statistički značajno manje linolne 18:2 masne kiseline, nego uzorci posteljica kontrolne skupine trudnica (**12,07%**). Statistički značajno manje je bilo linolne 18:2 masne kiseline u uzorcima istraživane skupine trudnica (**p<0,05***). Nešto manja zastupljenost ove masne kiseline bila je u skupini triacilglicerola/triglicerida u kojoj je bilo manje linolne 18:2 masne kiseline u posteljicama trudnica s tipom 1 šećerne bolesti (3,26%), a više linolne 18:2 masne kiseline u uzorcima kontrolne skupine trudnica (3,39%). Razlika nije bila statistički značajna (p>0,05). U skupini slobodnih masnih kiselina linolna 18:2 masna kiselina je bila statistički značajno manje zastupljena u uzorcima posteljica s tipom 1 šećerne bolesti (**1,96%**), nego u uzorcima posteljica kontrolne skupine trudnica (**2,18%**). Razlika je bila statistički značajna (**p<0,05***).



Graf 13: Zastupljenost dokozaheksaenske kiseline u lipidima

Grafikon br.13 prikazuje zastupljenost (%) dokozaheksaenske 22:6 masne kiseline u pojedinim skupinama lipida. Dokozaheksaenska 22:6 masna kiselina je prikazana u grafikonu prema postotku zastupljenosti. Na apscisi je prikazana dokozaheksaenska 22:6 masna kiselina u skupini fosfolipida, skupini triacilglicerola/triglicerida, skupini slobodnih masnih kiselina i skupini kolesterol-estera za istraživanu i kontrolnu skupinu trudnica. Na ordinati je izražen postotak (%)

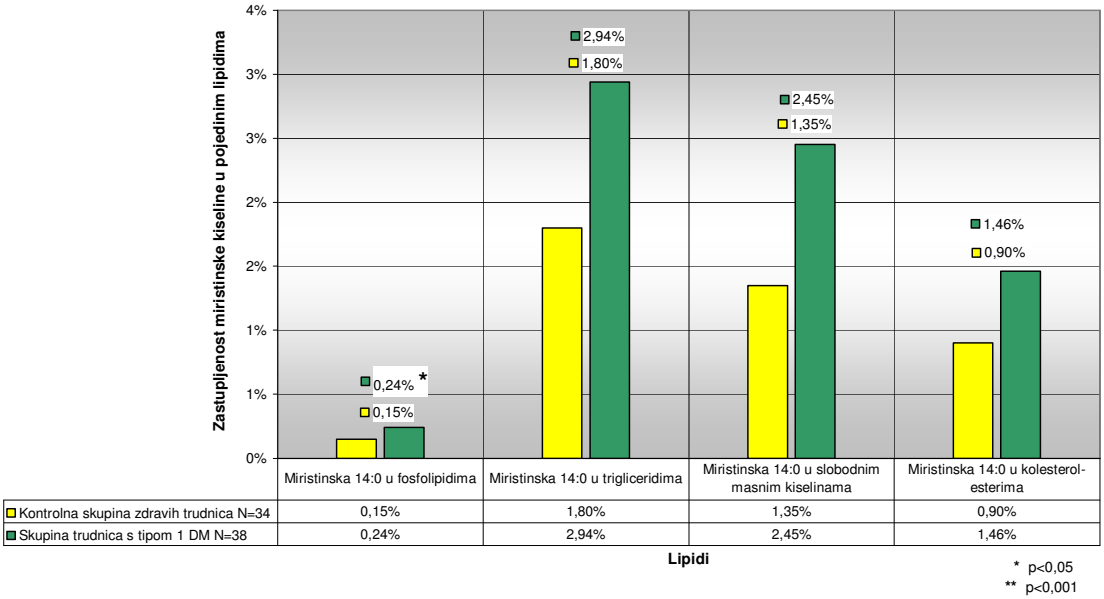
dokozaheksaenske 22:6 masne kiseline u spomenutim skupinama lipida. Zelenom bojom su označeni uzorci istraživane skupine trudnica s tipom 1 šećerne bolesti, a žutom bojom uzorci kontrolne skupine trudnica. U tri skupine lipida postojala je statistički značajna razlika u zastupljenosti ove masne kiseline u istraživanoj i kontrolnoj skupini trudnica, dok je u jednoj skupini lipida ta razlika bila bez statističkoj značaja. Dokozaheksaenska 22:6 masna kiselina je bila najzastupljenija u skupini kolesterol-estera. Njena zastupljenost u uzorcima posteljica trudnica s tipom 1 šećerne bolesti (**2,80%**) je bila statistički značajno manja od zastupljenosti ove masne kiseline u uzorcima kontrolne skupine trudnica (**4,03%**). Bilo je statistički značajno manje dokozaheksaenske 22:6 masne kiseline u posteljicama istraživane skupine trudnica (**$p<0,001^{**}$**). U skupini triacilglicerola/triglicerida dokozaheksaenska 22:6 masna kiselina je bila statistički značajno manje zastupljena u uzorcima posteljica trudnica s tipom 1 šećerne bolesti (**0,16%**), nego u uzorcima posteljica kontrolne skupine trudnica (**0,60%**). Razlika je bila statistički značajna (**$p<0,05^{*}$**). U skupini slobodnih masnih kiselina dokozaheksaenska 22:6 masna kiselina je bila statistički značajno manje zastupljena u uzorcima posteljica trudnica s tipom 1 šećerne bolesti (**0,08%**), nego u uzorcima posteljica kontrolne skupine trudnica (**0,22%**). Razlika je bila statistički značajna (**$p<0,001^{**}$**). U skupini fosfolipida dokozaheksaenska 22:6 masna kiselina je bila više zastupljena u uzorcima posteljica trudnica s tipom 1 šećerne bolesti (0,12%), nego u uzorcima posteljica kontrolne skupine trudnica (0,10%). Razlika nije bila statistički značajna ($p>0,05$).



Graf 14: Zastupljenost miristoleinske kiseline u pojedinim lipidima

Grafikon br.14 prikazuje zastupljenost (%) miristoleinske 14:1 masne kiseline u pojedinim skupinama lipida. Miristoleinska 14:1 masna kiselina je prikazana u grafikonu prema postotku zastupljenosti. Na apscisi je prikazana miristoleinska 14:1 masna kiselina u skupini fosfolipida, skupini triacilglicerola/triglicerida, skupini slobodnih masnih kiselina i skupini kolesterol-estera za istraživanu i kontrolnu skupinu trudnica. Na ordinati je izražen postotak (%) miristoleinske 14:1 masne kiseline u spomenutim skupinama lipida. Zelenom bojom su označeni uzorci istraživane skupine trudnica s tipom 1 šećerne bolesti, a žutom bojom uzorci kontrolne skupine trudnica. Dvije skupine lipida imale su statistički značajnu razliku u zastupljenosti miristoleinske 14:1 masne kiseline u istraživanoj i kontrolnoj skupini trudnica, dok u dvije skupine lipida nije bilo statistički značajne razlike. Prema skupinama lipida miristoleinska 14:1 masna kiselina je bila najzastupljenija u skupini slobodnih masnih kiselina, a najmanje zastupljena u skupini fosfolipida. U skupini slobodnih masnih kiselina miristoleinska 14:1 masna kiselina je bila statistički značajno (**p<0,001****) više zastupljena u uzorcima posteljica istraživane skupine trudnica (**2,98%**), a manje zastupljena u uzorcima kontrolne skupine trudnica (**2,82%**). U skupini triacilglicerola/triglicerida miristoleinska 14:1 masna kiselina je bila manje zastupljena u uzorcima posteljica istraživane skupine trudnica (1,25%), a više zastupljena u uzorcima kontrolne skupine

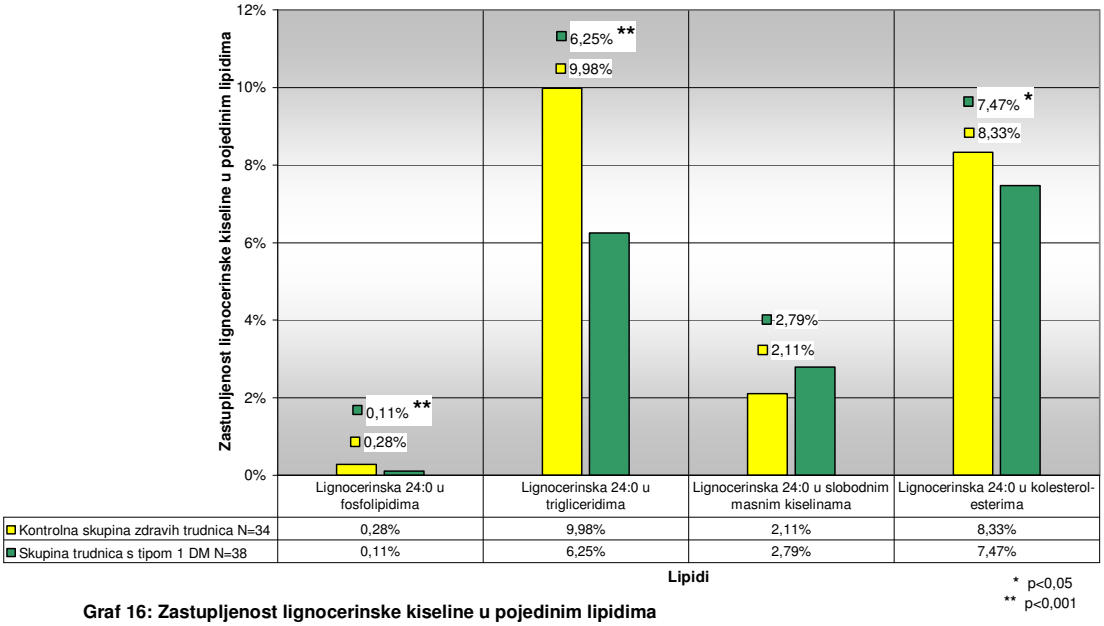
trudnica (1,54%). Razlika nije bila statistički značajna (p>0,05). U skupini kolesterol-estera miristoleinska 14:1 masna kiselina je bila statistički značajno manje zastupljena u uzorcima posteljica istraživane skupine trudnica (**0,52%**), dok je u uzorcima posteljica kontrolne skupine trudnica (**0,64%**) bila više zastupljena. Razlika je bila statistički značajna na razini 99% (**p<0,001****). U skupini fosfolipida miristoleinska 14:1 masna kiselina je bila više zastupljena u uzorcima posteljica istraživane skupine trudnica (0,51%), dok je u uzorcima posteljica kontrolne skupine trudnica (0,41%) bila manje zastupljena. Razlika nije bila statistički značajna (p>0,05).



Graf 15: Zastupljenost miristinske kiseline u pojedinim lipidima

Grafikon br.15 prikazuje zastupljenost (%) miristinske 14:0 masne kiseline u pojedinim skupinama lipida. Miristinska 14:0 masna kiselina je prikazana u grafikonu prema postotku zastupljenosti. Na apscisi je prikazana miristinska 14:0 masna kiselina u skupini fosfolipida, skupini triacilglicerola/triglicerida, skupini slobodnih masnih kiselina i skupini kolesterol-estera za istraživanu i kontrolnu skupinu trudnica. Na ordinati je izražen postotak (%) miristinske 14:0 masne kiseline u spomenutim skupinama lipida. Zelenom bojom su označeni uzorci istraživane skupine trudnica s tipom 1 šećerne bolesti, a žutom bojom uzorci kontrolne skupine trudnica. Miristinska

14:0 masna kiselina je bila najzastupljenija u skupini triacilglicerola/triglicerida, a najmanje u skupini fosfolipida. Samo u jednoj skupini lipida je postojala statistički značajna razlika između istraživane i kontrolne skupine trudnica, za ovu masnu kiselinu. U skupini triacilglicerola/triglicerida miristinska 14:0 je masna kiselina bila zastupljena više u uzorcima posteljica trudnica s tipom 1 šećerne bolesti (2,94%), a manje u uzorcima posteljica kontrolne skupine trudnica (1,80%). Razlika nije bila statistički značajna (p>0,05). U skupini slobodnih masnih kiselina miristinska 14:0 je masna kiselina bila zastupljena više u uzorcima posteljica trudnica s tipom 1 šećerne bolesti (2,45%), a manje u uzorcima posteljica kontrolne skupine trudnica (1,35%). Razlika nije bila statistički značajna (p>0,05). U skupini kolesterol-estera miristinska 14:0 je masna kiselina bila zastupljena više u uzorcima posteljica trudnica s tipom 1 šećerne bolesti (1,46%), a manje u uzorcima posteljica kontrolne skupine trudnica (0,90%). Razlika nije bila statistički značajna (p>0,05). U skupini fosfolipida miristinska 14:0 je masna kiselina bila zastupljena statistički značajno više u uzorcima posteljica trudnica s tipom 1 šećerne bolesti (**0,24%**), nego u uzorcima posteljica kontrolne skupine trudnica (**0,15%**). Razlika je bila statistički značajna (**p<0,001****).



Graf 16: Zastupljenost lignocerinske kiseline u pojedinim lipidima

Grafikon br.16 prikazuje zastupljenost (%) lignocerinske 24:0 masne kiseline u pojedinim skupinama lipida. Lignocerinska 24:0 masna kiselina je prikazana u grafikonu prema postotku zastupljenosti. Na apscisi je prikazana lignocerinska 24:0 masna kiselina u skupini fosfolipida, skupini triacilglicerola/triglicerida, skupini slobodnih masnih kiselina i skupini kolesterol-estera za istraživanu i kontrolnu skupinu trudnica. Na ordinati je izražen postotak (%) lignocerinske 24:0 masne kiseline u spomenutim skupinama lipida. Zelenom bojom su označeni uzorci istraživane skupine trudnica s tipom 1 šećerne bolesti, a žutom bojom uzorci kontrolne skupine trudnica. Lignocerinska 24:0 masna kiselina je bila najzastupljenija u skupini triacilglicerola/triglicerida, a najmanje zastupljena u skupini fosfolipida. Tri skupine lipida su imale statistički značajnu razliku u zastupljenosti ove masne kiseline u istraživanoj i kontrolnoj skupini trudnica, dok je jedna skupina bila bez statistički značajne razlike. Lignocerinska 24:0 masna kiselina je bila statistički značajno manje (**p<0,001****) zastupljena u uzorcima posteljica trudnica s tipom 1 šećerne bolesti (**6,25%**), nego u uzorcima kontrolne skupine trudnica (**9,98%**). U skupini kolesterol-estera lignocerinska 24:0 masna kiselina je bila statistički značajno (**p<0,05***) manje zastupljena u uzorcima posteljica trudnica s tipom 1 šećerne bolesti (**7,47%**), nego u uzorcima kontrolne skupine trudnica (**8,33%**). U skupini slobodnih masnih kiselina lignocerinska 24:0 masna kiselina je bila više zastupljena u uzorcima posteljica trudnica s tipom 1 šećerne bolesti (2,79%), nego u uzorcima kontrolne skupine trudnica (2,11%). Razlika nije bila statistički značajna (p>0,05). U skupini fosfolipida lignocerinska 24:0 masna kiselina je bila statistički značajno manje zastupljena u uzorcima posteljica trudnica s tipom 1 šećerne bolesti (**0,11%**), nego u uzorcima kontrolne skupine trudnica (**0,28%**). Statistički je bilo značajno manje lignocerinske 24:0 masne kiseline u posteljicama istraživane skupine trudnica (**p<0,001****).

5. RASPRAVA

Održavanje kontinuirane potopre hranjivim tvarima tijekom trudnoće omogućuje uredan intrauterini razvoj. Transport esencijalnih masnih kiselina (EFA) i dugolančanih višestruko nezasićenih masnih kiselina (LC-PUFA) ima važnu ulogu za embrionalni i fetalni rast (294,295,296). Dosadašnja istraživanja i rezultati o sadržaju masnih kiselina u posteljici su slabo proučeni i nepotpuni. U istraživanju i otkrivanju sadržaja lipida posteljice koriste se različite biokemijske metode, koje najčešće izražavaju rezultate u postotku (%) zastupljenosti masnih kiselina. Ideja ovog istraživanja je bila prikazati sadržaj lipida posteljice u udjelima (%) i kvantificirati sadržaj lipida u mikrogramima na 1 gram vlažnog posteljičnog tkiva (µg/g). Transplacentarni prijenos masnih kiselina je složen proces, koji uključuje djelovanje različitih proteina citoplazme i proteine stanične membrane (297,298). Proteinski nosači opisani u nekim in vitro provedenim studijama (299,300) pokazuju veći afinitet FABP-a za vezanje dugolančanih višestruko nezasićenih masnih kiselina (LC-PUFA) u odnosu na esencijalne masne kiseline (EFA) (301).

Do sada provedena istraživanja ukazuju na aktivnost zbivanja na molekularnoj razini stanice, ali samo jedna izdvojena studija Larquea, Demmelmaira, Bergera, Hasbargena i Koletzka (2002) opisuje sadržaj masnih kiselina posteljice sa njihovim prijenosom kroz posteljicu (81). U dosadašnjim istraživanjima nitko nije proučavao sadržaj lipida u posteljicama trudnica s tipom 1 šećerne bolesti. Metodologija ovog istraživanja provedena je prema originalnoj metodi za postupak ekstrakcije lipida i određivanje koncentracije masnih kiselina, modificiranoj prema Folch-u (296). Priprema uzoraka za određivanje sadržaja lipida u posteljičnom tkivu provedena je prema točno određenoj metodi za pripremu uzoraka. Rezultati su izraženi kvantitativno u mikrogramima na 1 gram vlažnog tkiva posteljice (µg/g) u tablicama i grafičkim prikazom sa udjelom (%) pojedinih zastupljenih skupina lipida i zastupljenih masnih kiselina. Rezultati ukazuju na manju zastupljenost ukupnih lipida u posteljicama trudnica s tipom 1 šećerne bolesti, nego u kontrolnoj skupini trudnica. Razlika nije bila statistički značajna ($p=0,872$; $p>0,05$), tablica br. 2. O sličnim zapažanjima izvješćuju nas i drugi istraživači Min Y, Lowy C, Ghebremeskel K, Thomas B, Offley-Shore B,

Crawford M (2005), koji naglašavaju statistički značajno niže vrijednosti nekih masnih kiselina (s naglaskom na DHA) u trudnica s tipom 1 šećerne bolesti. Treba napomenuti da su trudnice s tipom 1 šećerne bolesti imale dobro regulirane glikemije s minimalnim oscilacijama u 24-satnom profilu GUK-a. Vrijednosti glikoziliranog hemoglobina su pokazale, da se radilo o trudnicama kod kojih se redovitim hospitalizacijama i kliničkim nadzorom, te intenziviranom terapijom inzulinom postigla zadovoljavajuća regulacija glikemije, te da nije bilo sekundarnih komplikacija osnovne bolesti.

Prema analiziranim skupinama lipida u ukupnim lipidima najzastupljenija je bila skupina fosfolipida, potom je slijedila skupina slobodnih masnih kiselina, zatim skupina kolesterol-estera, a najmanje je bila zastupljena skupina triacilglicerola/triglicerida (tablica br. 2 i 3). Kad se analizira zastupljenost pojedinih skupina lipida u ukupnim lipidima statistički je značajno manji udio ($p = 0{,}000^{**}$; $p<0{,}001^{**}$) ukupnih slobodnih masnih kiselina u ukupnim lipidima za istraživanu skupinu trudnica (5,19%), nego u posteljicama kontrolne skupine (8,51%) trudnica (tablica br. 3). Statistički je bio i značajno manji udio ($p = 0{,}002^{*}$; $p<0{,}05^{*}$) ukupnih kolesterol-estera u ukupnim lipidima za istraživanu skupinu trudnica (2,48%), nego njihov udio u posteljicama kontrolne skupine trudnica (3,67%), (tablica br. 3).

Zastupljenost pojedinih masnih kiselina u ukupnim lipidima je pokazala statistički značajnu razliku jedino za *laurinsku 12:0 masnu kiselinu*. Istraživana skupina trudnica (6,19 µg/g ± 7,54) je imala statistički značajno više laurinske 12:0 masne kiseline u posteljicama, nego kontrolna skupina (2,21 µg/g ± 6,32) trudnica (tablica br. 4). Razlika je bila statistički značajna ($p=0{,}019^{*}$; $p<0{,}05^{*}$). Zastupljenost ostalih masnih kiselina kao što su miristinska 14:0 i lignocerinska 24:0 masna kiselina je bila veća u istraživanoj skupini trudnica, nego u kontrolnoj skupini trudnica, ali bez statistički značajne razlike. Ostale masne kiseline poput ukupne miristoleinske 14:1, ukupne palmitinske 16:0, ukupne stearinske 18:0, ukupne oleinske 18:1, ukupne linolne 18:2 i ukupne dokozaheksaenske 22:6 masne kiseline bile su manje zastupljene u ukupnim lipidima posteljica trudnica s tipom 1 šećerne bolesti, nego u posteljicama kontrolne skupine trudnica (tablica br. 4). Razlika nije bila statistički značajna.

U najzastupljenijoj skupini lipida (fosfolipidi) određen je veći broj masnih kiselina, koje su bile više zastupljene u uzorcima posteljica trudnica s tipom 1 šećerne

bolesti, nego u kontrolnoj skupini trudnica. Tako su laurinska 12:0, miristinska 14:0, miristoleinska 14:1, palmitinska 16:0, stearinska 18:0, arahidonska 20:4 i dokozaheksaenska 22:6 masna kiselina bile zastupljenije u istraživanoj skupini trudnica, međutim bez statistički značajne razlike. Statistički značajno više ($p = 0,044^{*}$; $p<0,05^{*}$) je bilo jedino miristinske 14:0 masne kiseline, koja je bila značajno zastupljenija u istraživanoj skupini (1,54 µg/g ± 1,13), nego u kontrolnoj skupini trudnica (1,10 µg/g ± 0,55). Statistički značajna razlika ($p = 0,001^{*}$; $p<0,05^{*}$) je bila u zastupljenosti lignocerinske 24:0 masne kiseline, koja je bila manje zastupljena u istraživanoj skupini (0,69 µg/g ± 0,49), nego u kontrolnoj skupini trudnica (2,01 µg/g ± 2,26). Od ostalih masnih kiselina u skupini fosfolipida u istraživanoj skupini trudnica manje je bilo linolne 18:2 i oleinske 18:1 masne kiseline, ali bez statistički značajne razlike.

Nešto izraženije razlike u zastupljenosti masnih kiselina bile su u skupini triacilglicerola/triglicerida (TAG/TG). Skupina triacilglicerola/triglicerida (TAG/TG) je u ukupnim lipidima bila najmanje zastupljena (tablica br. 2; grafikon br. 1). Ukupni triacilgliceroli/trigliceridi (TAG/TG) su bili manje zastupljeni u istraživanoj skupini trudnica (50,35 µg/g ± 37,55), nego u kontrolnoj skupini trudnica (56,80 µg/g ± 29,63), bez statistički značajne razlike. Međutim zastupljenost pojedinih masnih kiselina (tablica br. 8) se statistički značajno razlikovala. Veća je bila zastupljenost laurinske 12:0, miristinske 14:0 i oleinske 18:1 masne kiseline u istraživanoj skupini trudnica. Samo je laurinska 12:0 masna kiselina bila statistički značajno više zastupljena u istraživanoj skupini trudnica (1,75 µg/g ± 1,95), nego u kontrolnoj skupini trudnica (0,42 µg/g ± 0,91), razlika je bila statistički značajna ($p = 0,001^{*}$; $p<0,05^{*}$). Manja zastupljenost je bila kod dokozaheksaenske 22:6 i lignocerinske 24:0 masne kiseline, koje su bile statistički značajno manje zastupljene u istraživanoj skupini trudnica, nego u kontrolnoj skupini trudnica (tablica br. 8).

Proučavanje masnih kiselina u njihovoj biološkoj aktivnosti uključuje tri glavna koraka: a) ekstrakciju lipida u organskom otapalu (302,303,287) b) metilizaciju masnih kiselina (FAME) (304,305,292) c) te kvantifikaciju pojedinih FAME plinskom kromatografijom u FID detektoru (306,307,291). Katkada gotovo nema valjanog postupka za analizu sadržaja masnih kiselina u posteljičnom tkivu (308,309,310,62).

Međutim rad Klinglera, Demmelmaira, Larquea i Koletzka (295) upućuje nas o analizi sadržaja lipida u posteljičnom tkivu, ali samo u zdravih trudnica. Spomenuto istraživanje upućuje nas o sadržaju fosfolipida (PL), neesterificiranih masnih kiselina (NEFA), triacilglicerola/triglicerida (TAG/TG) i kolesterol-estera (CE) u terminskim posteljicama zdravih trudnica. Sastav masnih kiselina u analiziranim frakcijama pokazuje da nema razlike u vrijednostima uzoraka, bez obzira s kojeg mjesta posteljice su uzorci uzeti (297,298).

Uzorci u ovom istraživanju su uzimani uvijek sa istog mjesta posteljice. Lakin i suradnici nas izvješćuju o sadržaju ukupnih lipida u 10 uzoraka posteljičnog tkiva engleskih žena, što je sukladno ovom provedenom istraživanju. Slične rezultate opisao je Matorras i suradnici (309) na 78 španjolskih žena. Proučavan je relativni sastav masnih kiselina u fosfolipidima posteljičnog tkiva. Mediteransko podneblje tj. etnička pripadnost populacije trudnica i specifična mediteranska prehrana tj. zdravija dijetalna prehrana s više maslinovog i ribljeg ulja imala je veću zastupljenost pojedinih masnih kiselina u posteljičnom tkivu. Tako je sadržaj oleinske masne kiseline više bio zastupljen (13,88%) u posteljicama španjolskih žena, nego u posteljicama njemačkih žena (12,10%) (311,312,313). Vjerojatno zbog specifičnog i prilagođenog načina prehrane dijabetičkih trudnica, te mediteranskog utjecaja i u ovoj disertaciji je detektirana veća zastupljenost oleinske masne kiseline u istraživanoj skupini trudnica, iako bez statistički značajne razlike. Vrijednosti eikozapentaenske kiseline C 20:5 n-3 (0,40%) i dokozaheksaenske C 22:6 n-3 kiseline (5,63%) bile su više u španjolskoj populaciji žena nego u posteljicama njemačkih žena (EPA 0,11%; DHA 4,72%). Otkrivene su i niže koncentracije arahidonske kiseline C 20:4 n-6 (22,56%) u posteljicama španjolskih žena, nego u posteljicama njemačkih žena (24,95%) (313). Ovakav specifičan način prehrane, te dijetom inducirane promjene u sadržaju lipida plazme mogu se odraziti i na sadržaj lipida posteljice (313).

Maslinovo ulje je danas postalo sinonim zdravog načina prehrane i modernog življenja. Sve je više znanstvenih istraživanja i spoznaja o kvalitetnom ekstra djevičanskom maslinovom ulju. Mediteranski način prehrane prelazi okvire mediteranskog bazena i postaje posebno popularan u zemljama srednje Europe, sjeverne i južne Amerike, Kanade, Australije, Novog Zelanda, Japana i Tajlanda gdje

se provode velike promotivne aktivnosti o važnosti i kakvoći maslinovog ulja. Njegov uravnoteženi sastav, gdje dominira jednostruko nezasićena oleinska C 18:1 n-9 kiselina s odgovarajućim sadržajem linolne C 18:2 n-6 i alfa-linolenske C 18:3 n-3 kiseline (višestruko nezasićene esencijalne masne kiseline), te bogatim udjelom antioksidansa ima brojna zaštitna djelovanja na cijeli organizam. Sastav triacilglicerola/triglicerida u maslinovom ulju varira i promjenjiv je s obzirom na porijeklo (314,315).

U triacilglicerolnom/trigliceridnom dijelu maslinovog ulja masne kiseline zauzimaju znakovito mjesto, čak 95%, a uglavnom se sastoji od 16 i 18 ugljikovih atoma. U maslinovom ulju ima oko 17% zasićenih masnih kiselina i to: laurinska, miristinska, palmitinska, stearinska, arahinska, behenska i lignocerinska kiselina. Upravo je u ovom istraživanju opažena statistički značajno veća zastupljenost laurinske C 12:0 i miristinske C 14:0 masne kiseline u istraživanoj skupini trudnica, što potvrđuje korisnost i djelovornost preporučene im specifične mediteranske prehrane, te utjecaja zastupljenih masnih kiselina u maslinovom ulju. Nezasićene masne kiseline predstavljaju bitan čimbenik po kojem se maslinovo ulje razlikuje od ostalih masnoća, tako u njenom sastavu nalazimo najzastupljeniju (jednostruko nezasićenu) masnu kiselinu s parnim brojem ugljikovih atoma, oleinsku kiselinu C 18:1 n-9, koja predstavlja od 55 do 83% svih masnih kiselina u maslinovom ulju. Zbog navedenog rezultati ovog istraživanja vjerojatno pokazuju veću zastupljenost oleinske C 18:1 n-9 masne kiseline u trudnica s tipom 1 šećerne bolesti, nego u zdravih trudnica. Ostale manje zastupljene kiseline su: palmitoleinska C 16:1 n-7 u količini 0,3 do 3,5%, gadoleinska (eikosenska) kiselina C 20:1 n-11, do 0,5% i druge manje zastupljene kiseline. Osim jednostruko nezasićenih masnih kiselina s parnim brojem ugljikovih atoma nalaze se i one jednostruko nezasićene s neparnim brojem ugljikovih atoma (heptadecenska C 17:1 n-9), koje su zastupljene do 0,3%.

Najznačajnije esencijalne masne kiseline (višestruko nezasićene masne kiseline) u maslinovom ulju su linolna C 18:2 n-6 u količini od 3,5 do 21% i linolenska C 18:3 n-3 u količini do 0,9%. Omjer u kojem se nalaze navedene esencijalne masne kiseline u maslinovom ulju odgovara omjeru tih kiselina u majčinom mlijeku. Prosječan udio tokoferola u maslinovom ulju iznosi 150-330 mg/kg (316). Tokoferoli, kao sastavni dio maslinovog ulja imaju prirodno antioksidacijsko djelovanje i inhibiraju proces

oksidacije. U najvećoj količini zastupljen je α-oblik (vitamin E), koji ima najznačajniju biološku aktivnost. Uz α-tokoferol u ulju se nalaze još i β, γ i δ oblici (316). Osim tokoferola u ulju nalazimo i brojne sterole, koji su sastavni dio neosapunjive frakcije maslinovog ulja; pripadaju skupini fitosterola, a najvažniji je β-sitosterol koji ima važnu biološku vrijednost jer smanjuje crijevnu apsorpciju viška kolesterola, a istovremeno kao i tokoferoli djeluju kao antioksidansi i inhibitori oksidacije (317,318). Ostali steroli su: kampesterol, kampestanol, stigmasterol, klerosterol, sitostanol, Δ5-avenasterol, Δ5-24 stigmastadienol, Δ7-stigmastenol, Δ7-avenasterol, Δ7-kampesterol, kolesterol (319,320).

Mediteranska dijeta (321) smatra se idealnom dijetom za sprječavanje pojave tipa 2 šećerne bolesti, ali i pogodnom za primjenu u trudnica s tipom 1 šećerne bolesti. Nadalje, kao sastavni dio maslinovog ulja nalazimo i druge antioksidanse, kao što su tzv. fenolni spojevi. Tako oleuropein je glavni polifenolni spoj, koji maslinovom ulju daje karakterističnu gorčinu (322). U zdravih osoba konzumiranje maslinovog ulja može smanjiti razinu glukoze gotovo do 12%. Zamjena određene količine ugljikohidrata maslinovim uljem znakovito reducira metaboličko opterećenje glukozom.

Kod pojave i razvoja kardiovaskularnih bolesti ključnu ulogu ima količina kolesterola u organizmu (323). Posebno je opasan LDL-kolesterol, koji se nakuplja na unutrašnjim stijenkama arterija, koje se postupno sužavaju i dolazi do razvoja ateroskleroze. Rizik od kardiovaskularnih bolesti povezuje se s visokim vrijednostima LDL-kolesterola i triacilglicerola/triglicerida u plazmi. Upravo kod trudnica s tipom 1 šećerne bolesti zamjena jednog dijela ugljikohidrata s maslinovim uljem u prehrani može smanjiti razinu triacilglicerola/triglicerida, te tako djelovati protektivno. Prehrana bogata jednostruko nezasićenim masnim kiselinama smanjuje razinu triacilglicerola/triglicerida i količinu LDL-kolesterola, dok povećava razinu HDL-kolesterola, koji uklanja čestice LDL-kolesterola sa stijenke krvnih žila i smanjuje rizik od tromboze ili infarkta miokarda.

Upravo se zapažanja u ovom istraživanju slažu sa zapažanjima drugih istraživača, da je najmanja zastupljenost triacilglicerola/triglicerida u ukupnim lipidima izoliranim iz posteljica trudnica sa nešto nižim vrijednostima u trudnica s tipom 1

šećerne bolesti u odnosu na kontrolnu skupinu trudnica. Razlika nije bila statistički značajna. Konzumiranje višestruko nezasićenih masti (riba, ulje suncokreta, kukuruznih klica i repica) smanjuje LDL-kolesterol. Poznato je da namirnice bogate kolesterolom postaju manje štetne, ako su začinjene maslinovim uljem (323). Dostupni podaci o sadržaju masnih kiselina u posteljicama trudnica s tipom 1 šećerne bolesti su ograničene. Poznato je da potpora s esencijalnim masnim kiselinama i dugolančanim višestruko nezasićenim masnim kiselinama kroz posteljicu omogućuje uredan fetalni rast i razvoj (296).

Trudnice s tipom 1 šećerne bolesti koje su uključene u ovo istraživanje predstavljaju skupinu trudnica s najmanje zastupljenim, potencijalno mogućim rizicima, od komplikacija osnovne bolesti; predstavljaju skupinu trudnica sa striktnom kontrolom i redovitim kliničkim nadzorom, te intenziviranom terapijom inzulinom; skupinu trudnica sa dobro reguliranim glikemijama u 24 satnom profilu; te skupinu trudnica sa točno određenim dijetalnim režimom prehrane, gdje je preporučena zamjena određene količine ugljikohidrata sa pravovaljanim hranidbenim nadomjescima, kao što je maslinovo ulje. Spomenute preporuke i dijetalni režim prehrane rezultirao je dobro reguliranim oblicima šećerne bolesti u trudnoći, dobrim perinatalnim ishodom u trudnica s tipom 1 šećerne bolesti, kao i stabilnijim intermedijarnim metabolizmom s pozitivnim reperkusijama na metabolizam i odlaganje lipida u posteljično tkivo.

S obzirom na spomenuto, te na moguće alteracije u sastavu neesterificiranih masnih kiselina posteljice, na koje nas upućuju Lagerstedt, Hinrichs, Batt, Magera, Rinaldo i McConnel (2001) u svojim radovima; Waterman, Emmision, Sattar i Dutta-Roy (2000) i Ramirez-Tortosa, Lopez, Suarez, Ros, Mataix i Gil (1999) (324,294,313) bitno je uzorak primjereno pripremiti, očistiti, isprati i zamrznuti tijekom narednih 45 minuta od trenutka uzimanja, kako bi se smanjile moguće promjene u sadržaju neesterificiranih masnih kiselina. Stajanjem uzorka dolazi do djelovanja triacilglicerol-hidrolaze na sadržaj neesterificiranih masnih kiselina, te dolazi do njihovog porasta u koncentraciji (325). U ovom je istraživanju upravo primijenjen određen standardni postupak u pripremi uzoraka, te je na taj način smanjena mogućnost sekundarnih promjena uzorka od djelovanja katalitičkih enzima; a na taj način uzorak je ostao postojan, te je očuvan sastav masnih kiselina u uzorcima. Sadržaj dugolančanih (n-3)

višestruko nezasićenih masnih kiselina (LC-PUFA) s napredovanjem trudnoće raste. Takve promjene se direktno odražavaju na transplacentarni prijenos masnih kiselina u posteljicu (326,327). Dnevno intrauterino odlaganje masnih kiselina na kilogram tjelesne težine djeteta u terminu je oko 400 mg za n-6 masne kiseline i oko 50 mg n-3 masne kiseline (328).

Glavni izvor masnih kiselina koje se transportiraju u posteljicu su neesterificirane masne kiseline (NEFA) derivirane iz triacilglicerola (TAG) masnog tkiva trudnice i VLDL lipoproteina hepatalnog porijekla (329). Dio linolne/LA (C 18:2 n-6) i α-linolenska/ALA kiseline (C 18:3 n-3) dijelom se konvertira u dugolančane višestruko nezasićene masne kiseline (LC-PUFA) serije n-3 i n-6. LC-PUFA je važan element u svim tkivima za izgradnju strukture stanične membrane, te je istovremeno prekursor prostaglandina i eikosanoida. Brzi razvoj mozga kroz treće tromjesečje i prve postnatalne mjesece karakterizira izrazito osjetljivo i vulnerabilno razdoblje u kojem snižene vrijednosti dugolančanih višestruko nezasićenih masnih kiselina (LC-PUFA) može imati negativno djelovanje na fetalni razvoj, a kasnije na razvoj novorođenčeta (330,331,332). Granične vrijednosti esencijalnih masnih kiselina (EFA) tijekom razdoblja embriogeneze može rezultirati oštećenim razvojem neuralne cijevi embrija, te teratogenim razvojem (332).

Neki istraživači navode u svojim radovima manju zastupljenost linolne/LA C 18:2 n-6 i α-linolenske/ALA C 18:3 n-3 masne kiseline u umbilikalnoj krvi, nego njihovu zastupljenost u trigliceridima krvi majke (333,334,335,80). Rezultati ovog istraživanja ukazuju na općenito manji udio (%) velike većine masnih kiselina u istraživanoj skupini trudnica, uz pojedine iznimke za svaku skupinu lipida. Zapaženo je da povećanjem broja C atoma u lancu masnih kiselina dolazi do smanjenja zastupljenosti svake pojedine masne kiseline u uzorcima posteljica trudnica s tipom 1 šećerne bolesti, u odnosu na zastupljenost iste masne kiseline u zdravih trudnica; tj. što je lanac karboksilne kiseline kraći to je zastupljenost iste masne kiseline u dijabetičkih trudnica veća. Međutim značajnije razlike u zastupljenosti pojedinih masnih kiselina otkrivene su u skupini slobodnih masnih kiselina i skupini kolesterol-estera (tablica br. 10, 11, 12, 13). Trudnice s tipom 1 šećerne bolesti i dobro reguliranim glikemijama

svakako imaju manju mogućnost intermedijarnog metaboličkog djelovanja, na odlaganje lipida u posteljicu.

U stanjima ekstremnog gladovanja i djelovanja lipolitičke aktivnosti ili stanjima hiperglikemije gdje se višak ugljikohidrata može metabolizirati u lipide može doći do povećane ponude i transporta lipidnih metabolita u smjeru posteljice ili fetusa. Uzorak istraživane skupine trudnica u ovom radu ukazuje na stabilan metabolizam ugljikohidrata, te dobro reguliran tip 1 šećerne bolesti, koji intenziviranom terapijom inzulinom, uz dijabetičku dijetu od 1800 kcal održava stabilan metabolizam ugljikohidrata. Vrijednosti glikemije u 24-satnom profilu GUK-a ukazuju na minimalne oscilacije glikemije i na dobro reguliran oblik šećerne bolesti. Uz navedene spoznaje o šećernoj bolesti u trudnica i dobro regulirane glikemije u ovom istraživanju su zapažene određene promjene u skupini slobodnih masnih kiselina i skupini kolesterol-estera u obje skupine trudnica.

Skupina ukupnih slobodnih masnih kiselina je bila statistički značajno manje zastupljena u ukupnim lipidima posteljica trudnica s tipom 1 šećerne bolesti (114,50 µg/g ± 73,06), nego u zdravih trudnica (191,89 µg/g ± 100,75). Razlika je bila statistički značajna ($p = 0{,}000^{**}$; $p<0{,}001^{**}$). Statistički značajne razlike u zastupljenosti pojedinih masnih kiselina u ovoj skupini lipida (slobodne masne kiseline) bila je slijedeća: bilo je više laurinske C 12:0 masne kiseline u uzorcima posteljica trudnica s tipom 1 šećerne bolesti (1,46 µg/g ± 1,85), nego u uzorcima posteljica kontrolne skupine trudnica (0,20 µg/g ± 0,45). Razlika je bila statistički značajna ($p = 0{,}000^{**}$; $p<0{,}001^{**}$). Miristoleinska C 14:1 n-5 masna kiselina je bila statistički značajno manje zastupljena u uzorcima posteljica trudnica s tipom 1 šećerne bolesti (3,41 µg/g ± 1,99), nego u uzorcima posteljica kontrolne skupine trudnica (5,40 µg/g ± 3,06). Razlika je bila statistički značajna ($p = 0{,}001^{*}$; $p<0{,}05$). Palmitinska C 16:0 masna kiselina je bila statistički značajno manje zastupljena u uzorcima posteljica trudnica s tipom 1 šećerne bolesti (59,31 µg/g ± 40,87), nego u uzorcima posteljica kontrolne skupine trudnica (110,87 µg/g ± 66,55). Razlika je bila statistički značajna ($p = 0{,}000^{**}$; $p<0{,}001^{**}$). Stearinska 18:0 masna kiselina je isto bila statistički značajno manje zastupljena u uzorcima posteljica trudnica s tipom 1 šećerne bolesti (19,48 µg/g ± 13,46), nego u uzorcima posteljica kontrolne skupine trudnica (47,58 µg/g ± 35,62).

Razlika je bila statistički značajna (p = 0,000**; p<0,001**). Oleinska C 18:1 n-9 masna kiselina je bila statistički značajno manje zastupljena u uzorcima posteljica trudnica s tipom 1 šećerne bolesti (8,76 µg/g ± 8,75), nego u uzorcima posteljica kontrolne skupine trudnica (19,92 µg/g ± 18,57). Razlika je bila statistički značajna (p = 0,001*; p<0,05). Linolna C 18:2 n-6 masna kiselina je bila statistički značajno manje zastupljena u uzorcima posteljica trudnica s tipom 1 šećerne bolesti (2,25 µg/g ± 2,71), nego u uzorcima posteljica kontrolne skupine trudnica (4,19 µg/g ± 5,09). Razlika je bila statistički značajna (p = 0,044*; p<0,05). Dokozaheksaenska C 22:6 n-3 masna kiselina je bila statistički značajno manje zastupljena u uzorcima posteljica trudnica s tipom 1 šećerne bolesti (2,25 µg/g ± 2,71), nego u uzorcima posteljica kontrolne skupine trudnica (4,19 µg/g ± 5,09). Razlika je bila statistički značajna (p = 0,044*; p<0,05).

Osim što su se pojedine razlike između zastupljenih masnih kiselina i statistički značajno razlikovale, kvantitativnom analizom se vidjelo da su analizirane masne kiseline bile značajno više zastupljene u posteljicama zdravih trudnica, nego u istraživanoj populaciji trudnica. Statistički manje razlike bile su kod miristinske C 14:0 masne kiseline, koja je bila više zastupljena u uzorcima trudnica s tipom 1 šećerne bolesti (2,81 µg/g ± 1,93), nego u uzorcima kontrolne skupine trudnica (2,60 µg/g ± 1,00), ali bez statistički značajne (p = 0,569; p>0,05) razlike. Arahidonska C 20:4 n-6 masna kiselina je bila manje zastupljena u uzorcima trudnica s tipom 1 šećerne bolesti (4,06 µg/g ± 3,42), nego u uzorcima kontrolne skupine trudnica (4,59 µg/g ± 3,28). Razlika nije bila statistički značajna (p = 0,507; p>0,05), te lignocerinska C 24:0 masna kiselina, koja je bila manje zastupljena u uzorcima trudnica s tipom 1 šećerne bolesti (3,20 µg/g ± 2,43), nego u uzorcima kontrolne skupine trudnica (4,05 µg/g ± 4,38). Razlika nije bila statistički značajna (p = 0,306; p>0,05). Udio (%) zastupljenih masnih kiselina u skupini slobodnih masnih kiselina prikazan je u tablici br. 11.

U posljednjoj skupini lipida CE/EC (kolesterol-esteri) otkrivene su značajne razlike između istraživane i kontrolne skupine trudnica. Ukupni kolesterol-esteri (CE/EC) iz ukupnih lipida bili su manje zastupljeni u uzorcima posteljica trudnica s tipom 1 šećerne bolesti (54,58 µg/g ± 31,39), nego u uzorcima posteljica kontrolne skupine trudnica (82,80 µg/g ± 44,28). Razlika je bila statistički značajna, što ukazuje

na značajno manju zastupljenost ukupnih kolesterol-estera (CE/EC) u istraživanoj skupini trudnica ($p = 0,002^*$; $p<0,05^*$). Prema zastupljenosti pojedinih masnih kiselina u skupini kolesterol-estera (CE/EC) laurinska C 12:0 masna kiselina je bila više zastupljena u uzorcima posteljica trudnica s tipom 1 šećerne bolesti (1,79 µg/g ± 2,28), nego u uzorcima kontrolne skupine trudnica (0,39 µg/g ± 0,91). Razlika je bila statistički značajna, te je ukazala na značajno veće odlaganje laurinske C 12:0 masne kiseline u posteljice trudnica s tipom 1 šećerne bolesti ($p = 0,001^*$; $p<0,05^*$). Značajne razlike u odlaganju masnih kiselina bile su i za miristoleinsku C 14:1 n-5, palmitinsku C 16:0, stearinsku C 18:0, linolnu C 18:2 n-6, dokozaheksaensku C 22:6 n-3 i lignocerinsku C 24:0 masnu kiselinu. Miristoleinska C 14:1 n-5 masna kiselina je bila manje zastupljena u uzorcima posteljica trudnica s tipom 1 šećerne bolesti (0,28 µg/g ± 0,31), nego u uzorcima posteljica kontrolne skupine trudnica (0,53 µg/g ± 0,46). Razlika je bila statistički značajna, te se značajno manje miristoleinske C 14:1 n-5 masne kiseline odlagalo u posteljice trudnica s tipom 1 šećerne bolesti ($p = 0,009^*$; $p<0,05^*$). Palmitinska C 16:0 masna kiselina je bila manje zastupljena u uzorcima posteljica trudnica s tipom 1 šećerne bolesti (16,50 µg/g ± 11,24), nego u uzorcima posteljica kontrolne skupine trudnica (26,14 µg/g ± 12,65). Razlika je bila statistički značajna, te se značajno manje palmitinske C 16:0 masne kiseline odlagalo u posteljice trudnica s tipom 1 šećerne bolesti ($p = 0,001^*$; $p<0,05^*$). Stearinska C 18:0 masna kiselina u skupini kolesterol-estera (CE/EC) je bila manje zastupljena u uzorcima posteljica trudnica s tipom 1 šećerne bolesti (1,18 µg/g ± 0,58), nego u uzorcima posteljica kontrolne skupine trudnica (2,156 µg/g ± 2,06). Razlika je ukazala na statistički značajno manje odlaganje ove masne kiseline u posteljice trudnica s tipom 1 šećerne bolesti ($p = 0,006^*$; $p<0,05^*$). Linolna C 18:2 n-6 masna kiselina je bila manje zastupljena u uzorcima posteljica trudnica s tipom 1 šećerne bolesti (5,60 µg/g ± 6,67), nego u uzorcima posteljica kontrolne skupine trudnica (10,00 µg/g ± 11,47). Razlika je ukazala na statistički značajno manje odlaganje linolne C 18:2 n-6 masne kiseline u posteljice trudnica s tipom 1 šećerne bolesti ($p = 0,048^*$; $p<0,05^*$). Dokozaheksaenska C 22:6 n-3 masna kiselina je bila statistički značajno manje zastupljena u uzorcima posteljica trudnica s tipom 1 šećerne bolesti (1,53 µg/g ± 1,55), nego u uzorcima posteljica kontrolne skupine trudnica (3,33 µg/g ± 2,22). Razlika je bila statistički

značajna (p =0,000**; p<0,001**), te ukazuje na značajno manje odlaganje ove masne kiseline u posteljice trudnica s tipom 1 šećerne bolesti. Lignocerinska C 24:0 masna kiselina se značajno manje odlagala u posteljice trudnica s tipom 1 šećerne bolesti (4,08 µg/g ± 3,59), nego u posteljice kontrolne skupine trudnica (6,90 µg/g ± 5,64). Razlika je pokazala statistički značajno manju zastupljenost ove masne kiseline u trudnica s tipom 1 šećerne bolesti (p = 0,013*; p<0,05*). Od ostalih masnih kiselina koje su određene u skupini kolesterol-estera (CE/EC) miristinska C 14:0 masna kiselina se više odlagala u posteljice trudnica s tipom 1 šećerne bolesti (0,80 µg/g ± 0,65), nego u posteljice kontrolne skupine trudnica (0,75 µg/g ± 0,51). Međutim nije bilo statistički značajne razlike (p = 0,732; p>0,05) u odlaganju miristinske C 14:0 masne kiseline u posteljično tkivo istraživane i kontrolne skupine trudnica. Oleinska C 18:1 n-9 masna kiselina se manje odlagala u posteljice trudnica s tipom 1 šećerne bolesti (8,02 µg/g ± 7,50), nego u posteljice kontrolne skupine trudnica (10,94 µg/g ± 6,94). Razlika nije bila statistički značajna (p = 0,092; p>0,05). Arahidonska C 20:4 n-6 masna kiselina se manje odlagala u posteljice trudnica s tipom 1 šećerne bolesti (6,34 µg/g ± 5,75), nego u posteljice kontrolne skupine trudnica (7,28 µg/g ± 4,92). U skupini kolesterol-estera (CE/EC)) arahidonska C 20:4 n-6 masna kiselina se manje odlagala u posteljice istraživane skupine trudnica, ali bez statistički značajne razlike (p = 0,458; p>0,05). Zastupljenost odnosno udio (%) pojedinih masnih kiselina prikazan je u tablici br. 13.

Osim dobro regulirane osnovne bolesti transplacentarni prijenos masnih kiselina je reguliran i autoregulacijom, kako bi se prevenirao prekomjerni transfer lipida u smjeru fetusa. Tkivo posteljice u zdravih trudnica ne pokazuje aktivnost Δ-6 i Δ-5 desaturaze, zbog stabilnog metabolizma (336), koja bi omogućila daljnju razgradnju lipida pohranjenih u tkivu posteljice. Dugolančane višestruko nezasićene masne kiseline (LC-PUFA) u fetalnoj cirkulaciji pojavljuju se kao odraz biosinteze masnih kiselina i u majke i u fetusa iz prekursora esencijalnih masnih kiselina (EFA) (337). Visoka zastupljenost dugolančanih višestruko nezasićenih masnih kiselina (LC-PUFA) većim je dijelom rezultat materno-fetalnog transfera, a ne rezultata biosinteze LC-PUFA-e fetusa (337). Primarni transfer LC-PUFA prema fetusu objašnjava se pojačanim transportom tih masnih kiselina (338) ili nastaje kao rezultat selektivne razgradnje pojedinih frakcija lipida majke s visokim sadržajem LC-PUFA-e (339).

Napredovanjem trudnoće usporedno dolazi do porasta i drugih frakcija lipida, tako dolazi i do povećanja razine cirkulirajućeg triacilglicerola/triglicerida (TAG/TG) fetusa (340,341,342). Neka eksperimentalna istraživanja na životinjskim modelima pokazuju mogućnost biosinteze dugolančanih višestruko nezasićenih masnih kiselina (LC-PUFA) i u ranim fazama trudnoće (343,344), tako se odlaganje masti u fetalno masno tkivo ljudi javlja tek tijekom zadnjih nekoliko mjeseci trudnoće (341). Istraživanja na majmunima potvrđuju sve veću propusnost masnih kiselina od majke k fetusu s napredovanjem trudnoće (345). Takva sposobnost se može objasniti sve većom prokrvljenosti posteljičnog tkiva krajem trudnoće. Cirkulirajuće neesterificirane masne kiseline (NEFA) prvo se oslobađaju lipolitičkom aktivnosti iz triacilglicerola/triglicerida , a potom se transportiraju u smjeru fetusa. Kolesterol-esteri (CE/EC) fetalne plazme sintetiziraju se pomoću cirkulirajućeg enzima lecitin-kolesterol aciltransferaze (LCAT), koja omogućuje transfer masnih kiselina iz fosfatidilkolina (PC) u kolesterol (CH). Niska razina lecitin-kolesterol aciltransferaze (LCAT) u fetalnoj jetri može biti uzrokom konstantne razine CE-LC-PUFA u fetalnoj cirkulaciji krajem trudnoće. S obzirom da su fosfolipidi glavni sastavni dio svih bioloških membrana i čvrsto se ugrađuju u strukturu fetalnih lipida, takvo stanje može prevenirati akumulaciju dugolančanih višestruko nezasićenih masnih kiselina (LC-PUFA) fosfolipida u fetalnoj cirkulaciji. Cirkulirajući triacilgliceroli/trigliceridi (TAG/TG) se stvaraju iz egzogenih lipida nakon prolaska kroz posteljicu i sposobnosti endogene produkcije iz VLDL lipida fetalne jetre (346,347,200,329).

Isto tako postupni rast transplacentarnog prijenosa n-3 LC-PUFA koje se ugrađuju u triacilglicerole/trigliceride fetusa, krajem trudnoće može biti odraz i postupno sve većeg prijenosa masnih kiselina prema fetusu, ali i postupnog dozrijevanja aktivnosti enzima (desaturaze) u fetalnoj jetri. Lipidi čine sastavni dio dvoslojne lipidne strukture stanične membrane u svakoj stanici. Zbog navedenog mogu utjecati na funkciju samih lipida u staničnoj membrani, što je od posebne važnosti npr. za razvoj i strukturu središnjeg živčanog sustava. Neke se dugolančane višestruko nezasićene masne kiseline (LC-PUFA) koriste kao prekursori za bioaktivnost mediatora lipida uključujući prostaglandine, tromboksane i leukotriene. Oni predstavljaju snažne

regulatore brojnih funkcija poput agregacije trombocita, upalnih reakcija i djelovanja imunološkog sustava (348).

Odlaganje lipida u tijelu u odnosu na proteine ili ugljikohidrate može teći u neograničenim količinama. Potpora i metabolizam lipida znakovito mijenja sastav strukturalnih lipida u svim staničnim membranama i modificira funkciju fluidnosti stanične membrane, aktivnost transportnih enzima, promjenu metaboličkih reakcija i funkciju receptora (348).

Triacilgliceroli/trigliceridi (TAG/TG) su kemijski neutralne masti koje se nalaze u organizmu u obliku glavnih transportera masnih kiselina. Osnovni kemijski sastojak triacilglicerola/triglicerida, a tako i drugih lipida su ugljikovodične organske kiseline dugih lanaca što nazivamo masnim kiselinama. Fosfolipidi (PL) i kolesterol (CH) predstavljaju frakcije lipida, koji su neophodna komponenta dvosloja lipida stanične membrane. Upravo sastav i sadržaj masnih kiselina zastupljenih u spomenutim frakcijama održava fluidnost stanične membrane, njenu propusnost za različite metabolite, aktivnost enzima i receptora stanične membrane, te provodljivost električnih impulsa. Prisutni fosfolipidi (PL) u kombinaciji sa polarnim proteinima na površini lipoproteina omogućuje transport nepolarnih lipida u polarnoj plazmi.

Kolesterol (CH) je bitan prekursor za sintezu steroidnih hormona, žučnih kiselina. Višestruko nezasićene dugolančane masne kiseline s dvostrukom vezom na omega-6 (C 18:2 n-6 linolna kiselina) ili omega-3 (C 18:3 n-3 alfa-linolenska kiselina) mjestu predstavljaju esencijalne masne kiseline.

Tablica br. 14 prikazuje najčešće zasićene i nezasićene karboksilne kiseline.

Naziv	formula	Naziv	formula
Zasićene masne kiseline		***Esencijalne masne kiseline***	
Acetinska	C 2:0	Linolna	C 18:2 n-6
Propionska	C 3:0	α-linolenska	C 18:3 n-3
Butanska (maslačna)	C 4:0	γ-linolenska	C 18:3 n-6
Kapronska (heksanska)	C 6:0	Dihomo-γ-linolenska	C 20:3 n-6
Kaprilna (oktanska)	C 8:0	Arahidonska	C 20:4 n-6
Kaprinska (dekadska)	C 10:0	Eikosapentaenska	C 20:5 n-3
Laurinska (dodekadska)	C 12:0	Dokozaheksaenska	C 22:6 n-3
Miristinska (tetradekadska)	C 14:0		
Pentadekaenska	C 15:0	***Trans-masne kiseline***	
Palmitinska (heksadekadska)	C 16:0	Elaidinska	C 18:1 n-9t
Margarinska (heptadekanska)	C 17:0	Trans-vakceinska	C 18:1 n-7t
Stearinska (oktadekadska)	C 18:0	Linolelaidinska	C 18:2 n-6t
Arahidska (eikosanoidna)	C 20:0	Konjugirana linolna masna kiselina	C 18:2 n-6t
Behenijska (dokosanoidna)	C 22:0		
Lignocerinska	C 24:0	***Druge masne kiseline***	
		Miristoleinska	C 14:1 n-5
Cis-jednostruko zasićene masne kiseline		Stearidonska	C 18:4 n-3
Palmitoleinska	C 16:1 n-7	Meadinska	C 20:3 n-9
Oleinska	C 18:1 n-9	Eručna	C 22:1 n-9
Vakceinska	C 18:1 n-7		

Esencijalne masne kiseline su osnova za sintezu dugolančanih višestruko nezasićenih masnih kiselina (LC-PUFA) s 20 i 22 ugljikova atoma. Neke višestruko nezasićene dugolančane masne kiseline, kao dihomo-γ-linolenska 20:3 n-6, arahidonska 20:4 n-6 i eikozapentanoična 20:5 n-3 masna kiselina koriste se kao prekursori za sintezu prostaglandina, prostaciklina, tromboksana i leukotriena, te druge medijatore lipida, koji su snažni regulatori različitih staničnih procesa (agregacija trombocita, djelovanje leukocita za vrijeme upalnih procesa, zatvaranja duktus Bottali-a itd.). Kraj trudnoće s intrauterinim razvojem obilježen je vrlo brzim transferom i odlaganjem

lipida u posteljicu i fetus, te ugradnjom LC-PUFA, posebno arahidonske 20:4 n-6 (AA) kiseline i dokozaheksanoične 22:6 n-3 (DHA) kiseline u strukturalne lipide mozga, retine i drugih brojnih tkiva (Clandinin i suradnici, 1980; Martinez, 1992). Posebno visoke koncentracije LC-PUFA nalazimo u fosfolipidima (PL) stanične membrane.

Transfer esencijalnih masnih kiselina kroz posteljicu omogućuje uredan rast i razvoj fetusa. Analizom ukupnih lipida i koncentracije lipida u majčinom serumu naći ćemo znakovito više vrijednosti nego u plazmi umbilikalne krvi fetusa (348). Zasićene i jednostruko zasićene masne kiseline su zastupljene u većem postotku u plazmi umbilikalne krvi, nego u fetalnoj krvi, dok su LC-PUFA znakovito više zastupljene u umbilikalnoj krvi, vjerojatno kao odraz sinteze u fetalnom tkivu ili nastale kao odraz pojačanog transplacentarnog prijelaza (349,350,339). Kuhn i suradnici su kasnije navedenu hipotezu dokazali primjenom radiooznačene arahidonske C 20:4 n-6 (AA) masne kiseline, koja se ugradila u fosfolipide fetusa. Sastav majčinog mlijeka pokazuje prisutne LC-PUFA bogate esencijalnim masnim kiselinama (349).

Neki od autora nas izvješćuju da su niže vrijednosti AA tijekom trudnoće povezane sa slabijim intrauterinim razvojem (Koletzko, Braun, 1991; Leaf i suradnici, 1992) (350,351). Dokozaheksaenska C 22:6 n-3 (DHA) i arahidonska C 20:4 n-6 (AA) kiselina su vrlo važne masne kiseline, koje se ugrađuju u strukturalne lipide središnjeg živčanog sustava (352). Ove se kiseline prenose transplacentarno i pohranjuju u mozgu i drugim organima tijekom fetalnog razvoja.

Nedostatak dokozaheksaenske C 22:6 n-3 (DHA) kiseline u mozgu ili retini može inducirati patološke signale u staničnoj membrani, te tako poremetiti metabolizam lipida stanične membrane, što dalje rezultira oštećenjima funkcije vida ili smanjenim sposobnostima u kognitivnim funkcijama tijekom kasnijeg života djeteta. Takve promjene dovode do promjena u metabolizmu neurotransmitera (353). Dokozaheksaenska C 22:6 n-3 (DHA) i arahidonska C 20:4 n-6 (AA) masna kiselina su zastupljene u obliku fosfolipida stanične membrane, kao fosfatidiletanolamin (PE) i fosfatidilserin (PS), kao sastavni dio strukture stanične membrane i sastavni dio matriksa stanice. Mogu direktno ili kao prekursori drugih molekula djelovati na rast stanice, stanični metabolizam, međustanični i unutarstanični transport, djelovati na bjelančevine, te ekspresiju gena (354,352,353). Esencijalne masne kiseline se ne mogu

de novo sintetizirati u stanicama sisavaca, zbog čega se takve masne kiseline moraju unositi hranom, te transplacentarnim prijenosom pohraniti u fetalno tkivo. Linolna masna kiselina/LA C 18:2 n-6 i α-linolenska/ALA masna kiselina C 18:3 n-3 poznate su esencijalne masne kiseline.

Djelovanjem Δ-6 i Δ-5 desaturaze dolazi do produljenja lanca, te metaboličke pregradnje u arahidonsku C 20:4 n-6 i eikozapentanoičnu C 20:5 n-3 kiselinu. Daljnjom elongacijom lanca stvara se dokozaheksaenska / DHA C 22:6 n-3 kiselina (354,353). Transplacentarni prijelaz u pravcu fetusa dokozaheksaenske/DHA C 22:6 n-3 i arahidonske/AA C 20:4 n-6 masne kiseline odvija se u više koraka, od transporta kroz staničnu membranu, preko intracelularnog transporta moduliranog proteinskim nosačima, do daljnjeg prolaska, kroz staničnu membranu u smjeru fetusa (355,356,357,358,176,182,297,299,300).

Premda je relativni udio dokozaheksaenske/DHA C 22:6 n-3 i arahidonske/AA C 20:4 n-6 kiseline u lipidima plazme veći u fetalnoj, nego u majčinoj plazmi dijetalni unos esencijalnih masnih kiselina može utjecati na transport ovih masnih kiselina prema fetusu (359,360). Δ-6 i Δ-5 desaturaza su enzimi koji se javljaju u fetalnoj jetri već tijekom ranog fetalnog razvoja, premda je njihova aktivnost, do poroda vrlo mala (361,362,363,336,352). Eksperimentalna istraživanja na životinjskim modelima su pokazala da je primjena dijete bogate dokozaheksaenskom/DHA C 22:6 n-3 kiselinom i njenim transferom kroz posteljicu učinkovitiji, od metaboličkog stvaranja dokozaheksaenske/DHA C 22:6 n-3 masne kiseline iz α-linolenske kiseline/ALA C 18:3 n-3, kao izvora ove masne kiseline (364,365,366,367).

Tako su dosadašnja istraživanja esencijalnih masnih kiselina pokazala, da je relativni udio dokozaheksaenske/DHA C 22:6 n-3 i arahidonske/AA C 20:4 n-6 masne kiseline veći u plazmi fetusa, nego u majke, dok je relativni udio esencijalnih masnih kiselina u plazmi majke više zastupljen u triacilglicerolima/trigliceridima (TAG/TG), fosfolipidima (PL) i kolesterol-esterima (CE/EC)), nego u fetusa. Ovakvi odnosi o zastupljenosti esencijalnih masnih kiselina, mogli bi sugerirati, da je posteljica važno središte metaboličke sinteze dokozaheksaenske/DHA C 22:6 n-3 i arahidonske/AA C 20:4 n-6 masne kiseline potrebne za uredan fetalni razvoj (368). Istraživanja na eksperimentalnim modelima, te dosadašnja klinička zapažanja su da dijetalni unos n-6

i n-3 esencijalnih masnih kiselina može utjecati na transplacentarni prijenos dokozaheksaenske/DHA C 22:6 n-3 i arahidonske/AA C 20:4 n-6 masne kiseline prema fetusu. Tako zastupljenost relativnog udjela dokozaheksaenske/DHA C 22:6 n-3 i arahidonske/AA C 20:4 n-6 kiseline u plazmi majke direktno korelira s udjelom ovih masnih kiselina u plazmi fetusa (360). Prema nekim istraživačima primjena ribljeg ulja i/ili ribe koja je bogata dokozaheksaenskom/DHA C 22:6 n-3 masnom kiselinom korelira s zastupljenošću ove masne kiseline u plazmi fetusa (369,370). Drugi istraživači pokazuju da primjena esencijalnih masnih kiselina poput linolne masne kiseline/LA C 18:2 n-6 i α-linolenske masne kiseline/ALA C 18:3 n-3, ne dovodi do porasta udjela dokozaheksaenske/DHA C 22:6 n-3 kiseline u plazmi fetusa (371).

Tako nas Innins i suradnici, te Amusquivar i Herrera izvješćuju o istraživanju na eksperimentalnim životinjama, gdje je zapaženo, da manji udio n-3 esencijalnih masnih kiselina u prehrani eksperimentalnih modela rezultira manjim udjelom dokozaheksaenske/DHA C 22:6 n-3 kiseline (372,366). Manja zastupljenost ove masne kiseline tijekom fetalnog razvoja u retini oka i mozgu može se odraziti na slabiju reaktivnost elektroretinograma, padom metaboličke aktivnosti, padom aktivnosti dopamina i serotonina (373,374,366), te smanjenom aktivnosti tvari sive moždane mase. Posljednje tromjesečje karakterizirano je pojačanom lipolitičkom aktivnošću, kada dolazi do oslobađanja veće količine pojedinih lipidnih frakcija, koje se mogu transportirati k fetusu.

U stanjima pojačanog gladovanja dolazi do stvaranja ketonskih tijela iz SMK/FFA. Ketonska tijela se koriste u takvim okolnostima kao energetsko gorivo za metabolizam. U takvim se okolnostima glukoza sintetizira iz glicerola, a usporedno se aminokiseline koriste za fetalni rast. Transfer triacilglicerola/triglicerida (TAG/TG) je od male vrijednosti, ali je transport esencijalnih masnih kiselina, preko lipoproteina i receptorskih mjesta, te aktivnost LPL-e posteljice velik. Tip 1 šećerne bolesti pojačava transport lipida k fetusu zbog sve većeg materno-fetalnog gradijenta, koji može rezultirati i povećanjem ukupne mase masnog tkiva u fetusa. Istraživanja na životinjskim modelima ukazuju da je odlaganje lipida u fetalno tkivo malo, međutim klinička zapažanja u trudnica s tipom 1 šećerne bolesti ukazuju, da je odlaganje lipida pojačano tijekom trećeg tromjesečja (375). Ovakvo stanje je odraz intenzivnog

trasnplacentarnog prijenosa viška glukoze, kao lipogenog substrata, koji se može naročito, kod nereguliranih oblika šećerne bolesti metabolizirati i pohraniti u obliku lipida u masno tkivo. Osim toga krajem trudnoće dolazi do smanjenja oksidacijske aktivnosti masnih kiselina. Rezultati ovog istraživanja potvrđuju da striktna regulacija glikemije u trudnica s tipom 1 šećerne bolesti može smanjiti transport lipida u smjeru fetusa, te smanjiti odlaganje masnih kiselina u pojedinim frakcijama lipida u tkivo posteljice. Redoviti klinički nadzor trudnica s tipom 1 šećerne bolesti, te intenzivirana terapija inzulinom može stabilizirati metabolizam ugljikohidrata, održati stanje euglikemije, a s tim i stabilizirati intermedijarni metabolizam. Sadržaj lipida posteljice u trudnica s tipom 1 šećerne bolesti je manji nego u zdravih trudnica (375). U slučaju neadekvatno reguliranih glikemija dolazi do povećanog transfera metabolita u posteljicu trudnica s tipom 1 šećerne bolesti, te vjerojatno dolazi do narušavanja intermedijarnog metabolizma i poremećaja funkcije posteljice, što može rezultirati i sa većom učestalosti raznih komplikacija.

Histološke abnormalnosti su pokazatelj poremećene funkcije posteljičnog tkiva, tako se mogu naći žarišta fibrinoidne nekroze, korangioze, nezrelosti viloznih resica, što može imati za posljedicu iznenadnu smrt fetusa in utero. Evers i suradnici pretpostavljaju da veća masa posteljičnog tkiva i placentomegalija, koja se obično susreće u nereguliranih trudnica s tipom 1 šećerne bolesti, može imati zaštitnu ulogu u stanjima fetalne asfiksije (376).

Dražančić i suradnici (14), te Jansson i suradnici (377) izvješćuju nas, da i u slučajevima dobre regulacije glikemije u trudnica s tipom 1 šećerne bolesti, može doći do prekomjernog fetalnog rasta. Ovakvo stanje povezuju s metaboličkim poremećajima, koji se javljaju tijekom rane trudnoće, a kasnije mogu rezultirati poremećenim rastom posteljice, kao i oštećenom transportnom funkcijom posteljičnog tkiva. Brojna istraživanja in vitro u takvim okolnostima ukazuju na pojačanu aktivnost transportera posteljice za glukozu i aminokiseline, te pojačanu aktivnost LPL-e (377).

Poremećaj metabolizma ugljikohidrata u trudnica s tipom 1 šećerne bolesti može se odraziti svojim štetnim djelovanjem, od samog početka tj. počinje još u vrijeme oplodnje i razdoblja implantacije, nastavlja se cijelu trudnoću, te se može s negativnim učinkom odraziti i u kasnijem postpartalnom razdoblju. Stoga dobra regulacija

glikemije, redovite kontrole i klinički nadzor mogu biti glavni čimbenici u prevenciji lošeg perinatalnog ishoda (378,379). Barnes-Powell nas izvješćuje o štetnom djelovanju loše reguliranih oblika šećerne bolesti na embrionalni razvoj, štetnom djelovanju hiperglikemije tijekom razdoblja organogeneze, kasnijeg fetalnog razvoja, ali i neonatalnog razdoblja. Ukazuje na veću mogućnost nastanka kongenitalnih malformacija, spontanih pobačaja, poremećenog embrionalnog razvoja, prijevremenih poroda, respiratornog distresnog poremećaja, makrosomije, hipoglikemije, hipokalcemije, hiperbilirubinemije, policitemije itd. Primarna oštećenja tijekom intrauterinog razvoja mogu rezultirati dalekosežnim posljedicama u postnatalnom razdoblju, ali i većoj sklonosti pretilosti u odrasloj dobi (378,379,380).

Intrauterini razvoj u stanjima štetnog djelovanja hiperglikemije povisuje rizik od pretilosti, razvoja inzulinske rezistencije, poremećene sekrecije inzulina, te razvoja tipa 2 šećerne bolesti u novorođenčadi (381,382,383,384,385,386,387,388,389,390). Koncentracije slobodnih masnih kiselina u trudnica sa normalnom i patološkom trudnoćom istraživala je skupina autora Dražančić A, Stavljenić-Rukavina A (1971) u Klinici za ženske bolesti i porode, KBC Zagreb (391). Jedna od osobitosti metabolizma lipida u trudnica s tipom 1 šećerne bolesti su niže koncentracije nekih masnih kiselina u cirkulaciji trudnice i manja zstupljenost u tkivnim fosfolipidima. Primarno su snižene koncentracije AA i/ili DHA (392,381,390). Upravo su rezultati ovog istraživanja pokazali da su vrijednosti arahidonske C 20:4 n-6 (AA) i dokozaheksaenske C 22:6 n-3 (DHA) masne kiseline u ukupnim lipidima bile niže u posteljicama istraživane skupine trudnica, u odnosu na vrijednosti tih masnih kiselina u posteljicama kontrolne skupine trudnica, ali bez statistički značajne razlike (tablica br. 4; grafikon br. 2). Spomenute masne kiseline poput AA i DHA su dvije masne kiseline, koje nastaju iz esencijalnih masnih kiselina i to iz linolne/LA C 18:2 n-6 i α-linolenske/ALA kiseline C 18:3 n-3. One predstavljaju esencijalne strukture i funkcionalne komponente organa, koje se koriste za izgradnju stijenke krvnih žila, β stanica gušterače, stanica retine i stanica moždane mase (394,395,396). Adiv i suradnici naglašavaju promjene u koncentraciji AA i DHA u eksperimentalnih životinja, koje se mogu odraziti na promjenu osjetljivosti inzulina na glukozu, ali i samu razinu inzulina (397,381).

Dosadašnje spoznaje o gestacijskom obliku šećerne bolesti ukazuju na niže vrijednosti AA i DHA u plazmi i eritrocitima trudnica (398,399), te nižim vrijednostima ovih masnih kiselina u eritrocitima novorođenčadi (399). Podaci dobiveni ovim istraživanjem ukazuju na niže vrijednosti AA i DHA u trudnica s tipom 1 šećerne bolesti (grafikon br. 2), dok su vrijednosti u kontrolnoj skupini više, ali bez statistički značajne razlike.

Postoji svega nekoliko istraživanja (Wijendran i suradnici; Konrad i suradnici; Lakin i suradnici; Đelmiš i suradnici) koja nas izvješćuju o sadržaju masnih kiselina samo u fosfolipidima (PL) trudnica s tipom 1, tipom 2 ili gestacijskim (GDM) oblikom šećerne bolesti (400,401,402,62,120,399). Rezultati istraživanja u ovoj disertaciji ukazuju za skupinu fosfolipida (PL) najveću zastupljenost palmitinske C 16:0 masne kiseline u istraživanoj i kontrolnoj skupini trudnica (grafikon br. 3). Manje zastupljene masne kiseline slijedom su stearinska C 18:0, oleinska C 18:1 n-9, arahidonska C 20:4 n-6, linolna C 18:2 n-6, miristoleinska C 14:1 n-5, lignocerinska C 24:0, miristinka 14:0, dokozaheksaenska C 22:6 n-3 i najmanje zastupljena laurinska C 12:0 masna kiselina (grafikon br. 3). Statistički značajna razlika u zastupljenosti masnih kiselina između istraživane i kontrolne skupine trudnica bila je za lignocerinsku C 24:0 i miristinsku C 14:0 masnu kiselinu (grafikon br. 3). Min, Lowy i suradnici proveli su istraživanje o utjecaju tipa 1 i tipa 2 šećerne bolesti na sadržaj masnih kiselina u plazmi i eritrocitima majke, između 25. i 30. tjedna trudnoće, kad dolazi do najizraženijeg pohranjivanja lipida u fetalne strukture (398). Nije bilo statistički značajne razlike u zastupljenosti masnih kiselina u skupini triacilglicerola/triglicerida (TAG/TG) za istraživanu i kontrolnu skupinu trudnica. Međutim istraživanje je pokazalo manju zastupljenost arahidonske/AA C 20:4 n-6 i dokozaheksaenske/DHA C 22:6 n-3 u plazmi i lipidima stanične membrane, kod dijabetičkih trudnica (398). Rezultate su povezali s razvojem veće učestalosti rezistencije na inzulin, te većom učestalosti tipa 2 dijabetesa u novorođenčadi dijabetičkih trudnica, što su potvrdili i drugi istraživači (398,382,383,384,385,386).

Prema rezultatima ovog istraživanja evidentna je razlika u sadržaju lipida između istraživane i kontrolne skupine trudnica, te zastupljenih masnih kiselina u pojedinim frakcijama lipida. Moore i suradnici nas izvješćuju o potencijalnom djelovanju

linolne/LA C 18:2 n-6 esencijalne masne kiseline na zastupljenost, te masne kiseline u TAG/TG. Spomenuta istraživanja nisu našla znakovite razlike u zastupljenosti ove masne kiseline u dijabetičnih trudnica i trudnica kontrolne skupine (403). S obzirom na takve spoznaje i ishod ovog istraživanja ukazuje na slične rezultate tj. značajne razlike između istraživane i kontrolne skupine postoje, ali nisu statistički značajne. Ukupni triacilgliceroli/trigliceridi (TAG/TG) su bili najmanje zastupljena skupina lipida, koja je proučavana u ukupnim lipidima. Ova je skupina lipida bila podjednako zastupljena i u istraživanoj i kontrolnoj skupini trudnica, bez statistički značajne razlike. Zastupljenost pojedinih masnih kiselina u skupini triacilglicerola/triglicerida je bila statistički značajna. Tako je bilo statistički značajno više laurinske C 12:0 masne kiseline u istraživanoj skupini trudnica (tablica br. 8, 9; grafikon br. 4) i statistički značajno manje dokozaheksaenske C 22:6 n-3 i lignocerinske C 24:0 masne kiseline u trudnica s tipom 1 šećerne bolesti (tablica br. 8, 9; grafikon br. 4), nego u kontrolnoj skupini trudnica.

Sinteza AA i DHA ovisi o aktivnosti Δ-6 i Δ-5 desaturaze. Promjena aktivnosti ovih enzima može utjecati na koncentraciju ovih masnih kiselina u cirkulaciji majke. Međutim istraživanja Min-a i suradnika pokazuju da nema niti jednog pokazatelja, koji bi govorio u prilog znakovite razlike o promjenama aktivnosti ovih enzima u trudnica s tipom 1 šećerne bolesti i kontrolne skupine trudnica. Tako Min i suradnici, te Rump i suradnici ukazuju na određene specifičnosti; manju zastupljenost AA i DHA u frakciji fosfolipida (PL) trudnica s tipom 1 šećerne bolesti, nego u kontrolnoj skupini (404,381) s čim se podudara i ovo istraživanje. Istraživanja Baldinia i suradnika, te Pelikanove i suradnika u trudnica s tipom 2 šećerne bolesti ukazuje na povišene vrijednosti AA i DHA (405,406), dok istraživanja Tilvisa i suradnika, te Prisca i suradnika navode niže vrijednosti esencijalnih masnih kiselina i smanjene koncentracije AA i DHA u takvih trudnica (407,408).

S obzirom na značajna neslaganja u stavovima oko zastupljenosti pojedinih masnih kiselina u skupini fosfolipida (PL) ovo će istraživanje na uzorku trudnica s tipom 1 šećerne bolesti s dobro reguliranim glikemijama dati značajan doprinos znanstvenim spoznajama o sadržaju lipida u posteljicama trudnica. Ovakve razlike istraživači objašnjavaju, kao posljedicu razlika prema spolu, dobi, trajanju osnovne bolesti, terapiji, te sekundarnim dijabetičkim komplikacijama. S druge strane navode

se podaci o proučavanju zastupljenosti ovih masnih kiselina u različitim frakcijama lipida, tj. zastupljenost ovih masnih kiselina nije ista u svim frakcijama lipida. Istraživanja trudnica s tipom 1 šećerne bolesti u ovoj disertaciji ukazuju na statistički značajne razlike u zastupljenosti pojedinih masnih kiselina u svim skupinama lipida. Najizraženije razlike su bile u skupini slobodnih masnih kiselina (SMK/FFA) i skupini kolesterol-estera (CE) (tablica br. 10,11,12,13; grafikon br. 5,6). Očito je da osim navedenih čimbenika, koji mogu utjecati na razliku u zastupljenosti ovih masnih kiselina, na razliku mogu utjecati i pojedini oblici, odnosno tipovi šećerne bolesti. U ovoj disertaciji zastupljene su trudnice s dobro reguliranim oblicima šećerne bolesti, trudnice bez sekundarnih komplikacija osnovne bolesti, trudnice bez drugih patoloških stanja u trudnoći koje mogu kompromitirati embrionalni odnosno fetalni rast i razvoj, s čime se može objasniti manja zastupljenost lipida u posteljičnom tkivu. Početak trećeg tromjesečja obilježen je sve većim transferom i odlaganjem n-6 i n-3 masnih kiselina, uz usporedno odlaganje AA i DHA u fetalno tkivo (409). Status esencijalnih masnih kiselina fetusa je usporedan sa statusom masnih kiselina majke, tako da niže koncentracije AA i DHA u trudnica s tipom 1 šećerne bolesti snizuju koncentraciju ovih masnih kiselina i u fetusu. Dijabetes u trudnica ne djeluje samo na stanje hiperlipidemije majke (410,411), već djeluje i na aktivnost LPL u posteljici, te aktivnost transportnih proteina masnih kiselina. U takvih trudnica postoji velik afinitet za transport dugolančanih višestruko nezasićenih masnih kiselina/LC-PUFA (412,413,192). Kunesova i suradnici (414) ukazuju na genetski utjecaj izražen preko specifičnih masnih kiselina, koje sudjeluju u sastavu lipida stanične membrane. Abnormalan sastav fetalnih masnih kiselina može se susresti u slučajevima poremećenog metabolizma lipida kroz razdoblja hiperglikemije i hiperinzulinemije u trudnica s loše reguliranim oblicima tipa 1 šećerne bolesti.

Trudnice s tipom 2 šećerne bolesti imaju razvijenu rezistenciju na inzulin, dok su trudnice s tipom 1 šećerne bolesti primarno osjetljive na inzulin. U oba tipa šećerne bolesti možemo naći visoke koncentracije glukoze u krvi trudnice, ali i u fetusa. Arahidonska/AA C 20:4 n-6 i dokozaheksaenska/DHA C 22:6 n-3 kiselina su dvije znakovite masne kiseline, koje sudjeluju u strukturi stanične membrane i zadužene su za normalno funkcioniranje stanične membrane. Nedostatak odnosno gubitak ovih

masnih kiselina može izazvati primarna oštećenja stanične membrane, te na taj način oštetiti normalnu funkciju stanične membrane (415,416). Poznata je povezanost između koncentracije DHA u staničnoj membrani i osjetljivosti na inzulin. Tako su niže vrijednosti DHA u staničnoj membrani povezane sa većom inzulinskom rezistencijom, odnosno manjom osjetljivošću na inzulin. Višestruko nezasićene dugolančane masne kiseline/LC-PUFA se pohranjuju tijekom ranog graviditeta u majčino masno tkivo, dok se u kasnoj trudnoći prenose transplacentarnim putem u smjeru fetusa. Kraj trudnoće u zdravih trudnica obilježen je pojačanom lipolitičkom aktivnošću masnog tkiva, te dolazi do porasta koncentracije brojnih lipidnih frakcija s pojavom stanja hiperlipidemije. Izraženiji je porast TAG/TG plazme, dok je porast fosfolipida (PL) i kolesterola (CH) manji. Prisutni lipoproteinski receptori posteljice omogućuju transport u posteljicu, gdje dolazi do hidrolize LPL-om, aktivnošću fosfolipaze A2 i intracelularne lipaze. Na taj način se masne kiseline oslobađaju i mobiliziraju u fetalnu cirkulaciju. Neesterificirane masne kiseline majčine plazme predstavljaju istovremeno drugi važan izvor dugolančanih višestruko nezasićenih masnih kiselina za fetus.

Transport ovih masnih kiselina reguliran je pomoću specifičnog membranskog transportnog proteina masnih kiselina/$FABP_{pm}$ (417). S obzirom na intenziviranu terapiju inzulinom i održavanje euglikemije vidimo da su vrijednosti, odnosno koncentracije masnih kiselina u posteljicama istraživane skupine trudnica sa dugolančanim masnim kiselinama manje zastupljene, a masne kiseline kraćih lanaca i manjeg broja C atoma više zastupljene u istraživanoj skupini trudnica. Navedeno se može objasniti činjenicom, da striktna regulacija glikemije može stabilizirati metabolizam u trudnica s tipom 1 šećerne bolesti, a s tim postići i veću stabilnost masnih kiselina inkorporiranih u fosfolipide (PL) stanične membrane, koje su u stanju ravnoteže ili možda čak manje metaboličke oscilacije nego u zdravih trudnica. Na taj način može postići bolja regulacija transporta višestruko nezasićenih dugolančanih masnih kiselina/LC-PUFA i neesterificiranih masnih kiselina u pravcu fetusa. Međutim striktnom regulacijom glikemije, neki autori nas izvješćuju, da postoji veća učestalost hipoglikemičnih kriza. Autori navode da preko 40% trudnica s tipom 1 šećerne bolesti kroz trudnoću registriraju bar jednu hipoglikemičnu krizu. Učestale hipoglikemije tako

mogu aktivirati lipolitičku aktivnost, te rezultirati oslobađanjem masnih kiselina i ketonskih spojeva u cirkulaciju (418). Kroz trudnoću dolazi znakovitog prilagođavanja metabolizma, kako bi se omogućio stalni priliv svih supstrata za normalan rast i razvoj fetusa. Porast tjelesne mase pripisuje se nakupljanju lipida u masnom tkivu trudnice, kroz prva dva tromjesečja trudnoće, dok je treće tromjesečje obilježeno razgradnjom masnog tkiva u stanjima gladovanja. Zbog lipolize dolazi do oslobađanja SMK/FFA i glicerola u cirkulaciju, što može povećati koncentraciju ketonskih spojeva, koji se mogu ponovno preko hepatalne aktivnosti metabolizirati u glukozu.

Glukoza prolazi transplacentarno u smjeru fetusa, te ponovno omogućuje i daje potporu za fetalni rast. Produkti lipolitičke aktivnosti se u jetri mogu koristiti za sintezu TAG/TG, koji se dalje oslobađaju u cirkulaciju. Na taj način se pojačava transfer TAG/TG u obliku različitih lipoproteinskih frakcija, te smanjuje aktivnost LPL-e. Istovremeno dolazi do porasta ostalih lipoproteinskih frakcija. LC-PUFA/dugolančane višestruko nezasićene masne kiseline cirkulacije većim dijelom se nalaze kao sastavni dio lipoproteina TAG/TG, dok su u manjem dijelu zastupljene kao SMK/FFA. Transfer masnih kiselina u smjeru fetusa ovisi o lipoproteinskim receptorima, o aktivnosti LPL-e i aktivnosti intracelularne lipaze u stanicama posteljice. Istovremeno SMK/FFA majke su važan izvor dugolančanih višestruko nezasićenih masnih kiselina za fetus. Njihov transfer u posteljicu omogućen je procesom selektivne translokacije pomoću FABP proteina/ citoplazmatski transportni protein masnih kiselina (419,122).

Istraživanja na eksperimentalnim modelima pokazuju, da je transfer esencijalnih masnih kiselina uvijek dvostruko veći od transfera neesencijalnih masnih kiselina u odnosu na ukupno transportirane lipide u smjeru fetusa. Takva zapažanja pokazuju i potvrđuju, da je transport masnih kiselina selektivan proces, kojim se omogućuje veća zastupljenost onih masnih kiselina, koje su neophodne za fetalni rast i razvoj (420).

Transport masnih kiselina u smjeru fetusa ovisi i o utjecaju koncentracije pojedinih masnih kiselina u krvi majke. Tako nas Haggarty i suradnici izvješćuju o mogućem djelovanju i sastavu dijetalne prehrane na transportni mehanizam lipida. Utjecaj prehrane na dugolančane višestruko nezasićene masne kiseline/LC-PUFA odražava se povećanjem prijenosa ovih masnih kiselina na specifičan način, tako osmerostruki porast koncentracije dokozaheksaenske/DHA C 22:6 n-3 kiseline u

prehrani može povećati trasfer ove masne kiseline u fetalnu cirkulaciju 13 puta. Dvostruki porast koncentracije arahidonske/AA C 20:4 n-6 kiseline u prehrani rezultirat će 8 puta većim transferom ove masne kiseline u fetalnu cirkulaciju. Navedene spoznaje pokazuju da prehrana s različitim sadržajem masnih kiselina u trudnica s tipom 1 šećerne bolesti može prilagoditi odlaganje lipida u posteljicu, te transfer masnih kiselina u pravcu fetusa (421). Kuhn i suradnici izvješćuju nas o znakovitom porastu trasnporta i odlaganju arahidonske/AA C 20:4 n-6 kiseline u posteljično tkivo u trudnica s tipom 1 šećerne bolesti u odnosu na zdrave trudnice. Međutim u radu se ne može procijeniti kakva je regulacija glikemije u spomenutih trudnica i da li je bilo zastupljeno stanje normoglikemije, odnosno dobro regulirani oblik tipa 1 šećerne bolesti. U radu je korišten radioaktivno obilježen transportni protein vezan za arahidonsku/AA C 20:4 n-6 kiselinu, koji je verificiran u postaljicama trudnica s tipom 1 šećerne bolesti (422). Tip 1 šećerne bolesti predstavlja kronični poremećaj metabolizma ugljikohidrata u kojem embrionalne strukture, a kasnije i fetus rastu u okruženju povećanih koncentracija radikala kisika. Upravo radikali kisika, te oksidativni stres imaju štetno djelovanje u svim razvojnim fazama s obzirom na slabo djelovanje antioksidansa u takvim trudnoćama. Radovi Ornoya ukazuju na štetno djelovanje oksidativnog stresa, koji je prisutan u dijabetičkih trudnica s mogućom indukcijom i razvojem dijabetičke embriopatije, in vivo i in vitro. U takvim okolnostima dolazi do znakovitog pada djelovanja endogenih antioksidansa (enzimi, vitamin C, vitamin E) u embrionalnim strukturama i stanicama žumanjčane vrećice, što je zapaženo u eksperimentalnih modela. Cohen i suradnici izvješćuju o smanjenom djelovanju antioksidansa u eksperimentalnih životinja. Poznato je da oskidativni stres može biti induciran ionizantnim zračenjem, djelovanjem kokaina, alkohola, pušenjem, ali i poremećenom placentacijom. Ovakve promjene mogu kasnije biti uzrokom embrionalne smrti, razvoja preeklampsije i nastanka kongenitalnih malformacija (423). White i suradnici nas izvješćuju o smanjenoj aktivnosti superoksid dizmutaze u eksperimentalnih životinja koje boluju od šećerne bolesti u odnosu na kontrolnu skupinu. Tako dodavanje hipoksantina, ksantin oksidaze ili hidrogen peroksida u medij za inkubaciju smanjuje konverziju arahidonske/AA C 20:4 n-6 kiseline u PGF2α, PGE2 i TXB2 u posteljici (424).

Oskidativni stres je pojačan u posteljicama dijabetičkih trudnica i trudnica s preeklampsijom. Štetno djelovanje oksidativnog stresa odražava se i na krvne žile posteljice, uslijed čega dolazi do oštećene perfuzije posteljice, te poremećaja u transportu raznih metabolita (425). Funkcija posteljice uključuje čitav niz pažljivo usklađenih metaboličkih aktivnosti, koje se protežu kroz cijelu trudnoću. Poremećaj ovakve aktivnosti može biti narušen abnormalnim razvojem krvnih žila posteljice ili promjenama u stanicama trofoblasta, što možemo susresti u trudnica s tipom 1 šećerne bolesti. Ovakve promjene su rezultat štetnog djelovanja, tijekom razdoblja granajuće angiogeneze, negranajuće angiogeneze, diferencijacije trofoblasta i formiranja sincicija. Oštećenja poput hipokskičnog djelovanja ili poremećene nutritivne funkcije posteljice zahtjevaju postupak adaptacije posteljičnog tkiva na novonastale okolnosti.

Osim poremećene perfuzije u takvih trudnica dolazi do porasta metaboličke aktivnosti mitohondrija u stanicama posteljice, dolazi do porasta koncentracije slobodnih radikala kisika, te do pada razine enzima s antioksidativnim djelovanjem. Stanice trofoblasta i endotelne stanice krvnih žila stvaraju NADPH oksidazu (NOX) unutar fagosoma u pet različitih izoformi (p91-phox, p22phox, p40phox, p47phox, p67phox), koje su vjerojatno glavni izvor superoksidnih enzima u posteljičnom tkivu. Superoksid dizmutaza je djelotvorna u neutraliziranju štetnog djelovanja bakterija i kvasnica u izvanstaničnom prostoru.

Struktura posteljice ostaje u većini slučajeva netaknuta kod dijabetičkih trudnica osim u slučajevima loše kontrolirane trudnoće, što se podudara i s ovim istraživanjem. Dobra metabolička regulacija tijekom ranog graviditeta ključna je za primarni i nesmetani razvoj posteljice, ali isto tako i da bi se izbjegle patološke promjena u kasnijem tijeku trudnoće. Stukturne promjene, kao što su povećanje površine za izmjenu i povećani protok krvi kroz posteljicu mogle bi značiti prilagodbeni odgovor posteljice, kako bi se kompenzirao kompromitirani prijenos tvari kao što je kisik.

U trudnica s tipom 1 šećerne bolesti sa smanjenim uteroplacentarnim i fetoplacentarnim protokom krvi bilo koja strukturna promjena može biti dodatno uvećana. Unatoč nekim promjenama na molekularnoj razini prijenosnika, čini se da prijenos glukoze i aminokiselina ostaje unutar fizioloških i patofizioloških koncentracija hranidbenih tvari netaknut. Prijenos lipida ima specifičnosti, koje nisu

uvijek na razini statističke značajnosti, ali su ipak zastupljene. One su selektivne i značajne samo u pojedinim skupinama lipida i za točno određene masne kiseline (426).

Prikazani rezultati i novije spoznaje o sadržaju i metabolizmu lipida posteljica u trudnica s tipom 1 šećerne bolesti s ovim su istraživanjem, tek otvorile vrata novim mogućnostima i idejama u proučavanju još uvijek nedovoljno istraženog područja.

6. ZAKLJUČAK

Danas živimo i radimo širom svijeta u vremenima dramatičnog porasta incidencije i prevalencije šećerne bolesti. Dijabetes melitus je jedna od najčešćih metaboličkih disfunkcija, koja se odražava na cijelu trudnoću. Svojim učincima počinje, već u vrijeme fertilizacije i implantacije oplođene jajne stanice, a nastavlja se tijekom cijele trudnoće, nakon čega ponekad mogu ostati trajne promjene, koje se prenose na dijete. Dijabetes melitus u trudnoći uzorkuje brojne komplikacije za majku i nerođeno dijete. Tijekom trudnoće u dijabetičkih trudnica treba voditi brigu oko nekoliko osnovnih problema, a to su redoviti klinički nadzor takvih trudnica i osnovne bolesti s primjerenom regulacijom glikemije, kako bi se prevenirale komplikacije poput veće učestalosti prirođenih anomalija razvoja, veće učestalosti spontanih pobačaja i veće učestalosti poremećaja embrionalnog i fetalnog razvoja. Značajan problem u dijabetičkih trudnica je i pojava dijabetičke nefropatije i komplikacija preegzistirajuće hipertenzije s fetalnom i perinatalnom hipoksijom. Osim navedenih i klinički prepoznatljivih komplikacija postoji još čitav niz drugih problema, poput veće učestalosti prijevremenih poroda / prematuriteta, veće učestalosti prijevremenog prsnuća plodovih ovoja, veće sklonosti perinatalnim infekcijama, veće učestalosti mrtvorođene djece, porođajnih traumi, komplikacija pri porodu i asfiksije, veće sklonosti nastanka postpartalnog respiratornog distresnog sindroma (RDS), hipoglikemije, hipokalcemije, hipomagneziemije, policitemije i hiperbilirubinemije.

Brojne promjene u nereguliranim oblicima osnovne bolesti, osim majke i djeteta zahvaća i posteljicu, koja je bila središnje mjesto ovog istraživanja. Unatoč stalnom, uravnoteženom i redovnom unosu raznih hranjivih tvari tijekom trudnoće dolazi do značajnih promjena u metabolizmu ugljikohidrata, proteina i lipida. Specifične prilagodbe ugljikohidrata i proteina, koje se javljaju u takvim trudnoćama, već su prilično dobro proučene, osim brojnih i značajnih fizioloških odstupanja u metabolizmu lipida, koja nisu do kraja razjašnjena. U koliko se pojave, takve promjene mogu značajno izmjeniti funkciju, pa čak i strukturu posteljičnog tkiva s posljedičnim odstupanjima od normalnog intrauterinog razvoja. Posteljica je vrlo složen i slabo

proučen organski sustav, koji ima središnju metaboličku ulogu u trudnoći. Provocira interes brojnih istraživača zbog morfološki i patohistološki detektabilnih oštećenja, koja su vidljiva u mikroarhitekturi posteljica dijabetičkih trudnica.

Razvoj posteljice je vrlo složen slijed zbivanja, koji prolazi kroz svoje razvojne faze u trudnica s tipom 1 šećerne bolesti i obuhvaća čitav niz adaptacijskih promjena, kako bi se prilagodio djelovanju osnovne bolesti i sačuvao zaštitnu ulogu za embrio, a kasnije i fetus. U slučajevima dijabetičkih trudnica s loše reguliranim glikemijama, osim narušenog metabolizma ugljikohidrata postoji stalna potpora s viškom ugljikohidrata ili s viškom ketonskih tijela u stanjima hipoglikemije, koja mogu svojim djelovanjem izmjeniti metabolizam lipida.

Promjene sadržaja i sastava tzv. strukturnih lipida, koji se ugrađuju u membrane stanica, mogu izmjeniti funkciju stanične membrane. Promjene se odražavaju na promjenjivost lipida inkorporiranih u staničnu membranu, na aktivnost enzima i receptora, izmjene metabolita kroz membranu, kao i provodljivost staničnih bio-signala. U dvosloju lipida stanične membrane najzastupljeniji su fosfolipidi (PL) i kolesterol (CH), koji ovise o prirodi inkorporiranih masnih kiselina. Štetno djelovanje loše reguliranih glikemija u trudnica s tipom 1 šećerne bolesti može rezultirati specifičnim promjenama na staničnoj membrani i staničnim organelama, koja se može dalje odraziti na metabolizam lipida. Takvim promjenama su podložne i strukture posteljičnog tkiva u kojem može doći do odlaganja različitih metabolita lipida. Uzorci posteljica istraživane i kontrolne skupine trudnica su prikupljeni na odjelu za dijabetes i fetalni rast Klinike za ženske bolesti i porode. Trudnice s tipom 1 šećerne bolesti imale su dobro regulirane glikemije s minimalnim oscilacijama u 24 satnom profilu, bez hipoglikemičkih kriza, što je potvrđeno analizom glikoziliranog hemoglobina A1c. Takav stabilan metabolizam ugljikohidrata je bio istovremeno dobra osnova i za stabilan metabolizam lipida, kao i za stabilniji intermedijarni metabolizam; što se povoljno odrazilo i na sadržaj lipida u posteljicama istraživane skupine trudnica.

Analizom i uspoređivanjem dobivenih rezultata, a na osnovi prethodno postavljenih ciljeva istraživanja zaključeno je sljedeće:

1.) ***Ukupni lipidi*** bili su manje zastupljeni u uzorcima posteljica trudnica s tipom 1 šećerne bolesti, nego u kontrolnoj skupini zdravih trudnica, razlika nije bila statistički značajna. U ukupnim lipidima najzastupljeniji su bili ukupni fosfolipidi (PL), zatim ukupne slobodne masne kiseline (SMK/FFA), ukupni kolesterol-esteri (CE), a najmanje zastupljeni su bili ukupni triacilgliceroli/trigliceridi (TAG/TG). Statistički značajne razlike nađene su u skupini ukupnih slobodnih masnih kiselina i skupini ukupnih kolesterol-estera. Bilo je statistički značajno manje ukupnih slobodnih masnih kiselina i statistički značajno manje ukupnih kolesterol-estera kod trudnica s tipom 1 šećerne bolesti, nego u kontrolnoj skupini trudnica. Skupina ukupnih fosfolipida i skupina ukupnih triacilglicerola/triglicerida je bila manje zastupljena u istraživanoj, nego u kontrolnoj skupini trudnica, ali bez statistički značajne razlike

2.) U ukupnim lipidima je određena zastupljenost *svake pojedine masne kiseline* u istraživanoj i kontrolnoj skupini trudnica, te je zastupljenost međusobno uspoređena. Prema redosljedu zastupljenosti bile su sljedeće masne kiseline: ukupna palmitinska C 16:0 masna kiselina, ukupna stearinska C 18:0 masna kiselina, ukupna oleinska C 18:1 n-9 masna kiselina, ukupna arahidonska C 20:4 n-6 masna kiselina, ukupna linolna C 18:2 n-6 masna kiselina, ukupna dokozaheksaenska C 22:6 n-3 masna kiselina, ukupna miristoleinska C 14:1 n-5 masna kiselina, ukupna lignocerinska C 24:0 masna kiselina, ukupna miristinska C 14:0 masna kiselina i ukupna laurinska C 12:0 masna kiselina. Statistički značajna razlika je bila jedino u zastupljenosti ***laurinske C 12:0 masne kiseline***, koja je bila statistički značajno više zastupljena u posteljicama trudnica s tipom 1 šećerne bolesti, nego u posteljicama kontrolne skupine trudnica

3.) Određena je kvantitativna zastupljenost u mikrogramima na 1 gram vlažnog posteljičnog tkiva (µg/g) ***svake pojedine masne kiseline u skupinama lipida*** iz uzoraka posteljica trudnica s tipom 1 šećerne bolesti i kontrolne skupine

trudnica. Tako je u *skupini ukupnih fosfolipida* bila statistički značajna razlika u zastupljenosti miristinske C 14:0 i lignocerinske C 24:0 masne kiseline. Miristinska C 14:0 masna kiselina je bila statistički značajno više zastupljena u trudnica s tipom 1 šećerne bolesti, nego u kontrolnoj skupini trudnica. Lignocerinska C 24:0 masna kiselina je bila statistički značajno manje zastupljena u trudnica s tipom 1 šećerne bolesti, nego u kontrolnoj skupini trudnica. U *skupini ukupnih triacilglicerola/triglicerida* bilo je statistički značajno više laurinske C 12:0 masne kiseline u trudnica s tipom 1 šećerne bolesti, nego u kontrolnoj skupini trudnica. Statistički značajno manje je bilo dokozaheksaenske C 22:6 n-3 i lignocerinske C 24:0 masne kiseline u trudnica s tipom 1 šećerne bolesti, nego u kontrolnoj skupini trudnica. U *skupini ukupnih slobodnih masnih kiselina* bilo je više statistički značajnih razlika u zastupljenosti pojedinih masnih kiselina između istraživane i kontrolne skupine trudnica. Statistički značajno više je bilo samo laurinske C 12:0 masne kiseline u posteljicama trudnica s tipom 1 šećerne bolesti, nego u kontrolnoj skupini trudnica. Statistički značajno manje je bilo palmitinske C 16:0, stearinske C 18:0, oleinske C 18:1 n-9, miristoleinske C 14:1 n-5, linolne C 18:2 n-6 i dokozaheksaenske C 22:6 n-3 masne kiseline u posteljicama trudnica s tipom 1 šećerne bolesti, nego u kontrolnoj skupini trudnica. U *skupini ukupnih kolesterol-estera* bilo je statistički značajno više samo laurinske C 12:0 masne kiseline u posteljicama trudnica s tipom 1 šećerne bolesti, nego u kontrolnoj skupini trudnica. Statistički značajno manje je bilo palmitinske C 16:0, linolne C 18:2 n-6, lignocerinske C 24:0, dokozaheksaenske C 22:6 n-3, stearinske C 18:0 i miristoleinske C 14:1 n-5 masne kiseline u posteljicama trudnica s tipom 1 šećerne bolesti, nego u posteljicama kontrolne skupine trudnica. Isti rezultati su izraženi i s udjelima (%) svake pojedine masne kiseline u uzorcima posteljica trudnica s tipom 1 šećerne bolesti i kontrolne skupine trudnica. Izražen postotak (%) svake pojedine masne kiseline je ekvivalent kvantitativne zastupljenosti (μg/g) svake masne kiseline.

4.) Više ili statistički značajno više su bile zastupljene samo masne kiseline sa manjim brojem ugljikovih atoma u lancu karboksilne kiseline, dok su karboksilne kiseline s većim brojem ugljikovih atoma (dugolančane) bile manje zastupljene u uzorcima posteljica istraživane i kontrolne skupine trudnica. Navedeno je u skladu sa spoznajom, da se prijenos masnih kiselina prema posteljici inače povećava s padom broja C atoma u lancu karboksilne kiseline (81).

5.) Sve uključene trudnice u istraživanje s tipom 1 šećerne bolesti imale su primjereno reguliran i stabilan metabolizam ugljikohidrata s minimalnim oscilacijama glikemije u 24 satnim profilima GUK-a, bez hipoglikemičkih kriza, što se vjerojatno pozitivno odrazilo na metabolizam lipida majke, ali i posteljice

6.) S obzirom na rezultate i općenito manju zastupljenost masnih kiselina u posteljicama trudnica s tipom 1 šećerne bolesti može se pretpostaviti da pojačana lipolitička aktivnost, te povećana ponuda dugolančanih višestruko nezasićenih masnih kiselina (LC-PUFA) iz masnog tkiva trudnica krajem trudnoće, unatoč održanom lipoproteinskom transportu LC-PUFA, preko lipoproteinskih receptora i hidrolitičke aktivnosti lipoproteinske lipaze, fosfolipaze A(2) i intracelularne lipaze posteljice u trudnica s dobro reguliranim tipom 1 šećerne bolesti neće rezultirati statistički značajnijim odlaganjem lipida u posteljično tkivo, osim u slučaju nekih masnih kiselina (kraćih lanaca) s manjim brojem ugljikovih atoma. Takve su masne kiseline zastupljene statistički značajno više u posteljicama dijabetičkih trudnica unatoč stabilnom metabolizmu ugljikohidrata i dobroj regulaciji glikemije

7. SAŽETAK:

Sadržaj lipida u posteljicama trudnica s tipom 1 šećerne bolesti

Provedeno istraživanje je nastalo, na osnovi dosadašnjih spoznaja o utjecaju tipa 1 šećerne bolesti, na još uvijek slabo proučen, lokalni metabolizam lipida u posteljicama dijabetičkih trudnica. Uopće, dosadašnji podaci o sadržaju lipida u posteljicama trudnica su nedostatni i slabo proučeni. Zadatak ove disertacije je bio utvrditi: a) kvalitativni i b) kvantitativni sadržaj lipida u mikrogramima na 1 gram vlažnog tkiva posteljice, te izraziti njihov udio u postotku (%) zastupljenosti u pojedinim skupinama lipida; te c) zastupljenost pojedinih masnih kiselina u svakoj skupini lipida. Poseban je interes posvećen proučavanju utjecaja tipa 1 šećerne bolesti na same trudnice, njihovu nerođenu djecu i posteljično tkivo. S obzirom, da u do sada dostupnoj literaturi ne postoje radovi koji su proučavali utjecaj dobro reguliranih glikemija kod trudnica s tipom 1 šećerne bolesti na sadržaj lipida u posteljicama takvih trudnica u istraživanje su bile uključene dvije skupine trudnica.

Prva skupina je bila skupina od 38 trudnica s tipom 1 šećerne bolesti, koja je predstavljala istraživanu skupinu trudnica; druga je bila kontrolna skupina, koju su predstavljale 34 zdrave trudnice. U svih trudnica su uzeti opći podaci, podaci o prvom danu posljednje menstruacije, a trudnoća je dokazana određivanjem vrijednosti β-HCG-a unutar 14 dana od izostale menstruacije. Trudnice su zaprimljene u Referentni centar za dijabetes u trudnoći (RCZDT) više puta tijekom trudnoće, radi kliničkog nadzora, UZV pregleda i laboratorijske obrade. Serijskim je određivanjem β-HCG-a utvrđeno da li se radilo o normalnoj ili poremećenoj trudnoći. Tijekom embrionalnog razvoja praćen je rast udaljenosti tjeme-trtica (CRL - crown rump length), a kasnije je praćena fetalna biometrija. Određivana je srednja vrijednost prve jutarnje vrijednosti GUK-a; srednja vrijednost prve postprandijalne razine GUK-a; srednja vrijednost, svih srednjih vrijednosti velikih profila GUK-a; vrijednosti HbA1c. Kvaliteta regulacije glikemije kontrolirala se određivanjem glikoziliranog hemoglobina A_1c / HbA_1c). Trudnice su dolazile na redovite kontrolne boravke u RCZDT. Točna procjena gestacije određena je usporedbom prvog dana posljednje menstruacije i kliničke procjene trudnoće, koja je

uspoređena s UZV nalazom. Sve trudnoće, istraživane i kontrolne skupine trudnica dovršene su carskim rezom u terminu, nakon procjene fetalne zrelosti i postavljene indikacije za carski rez (disproporcija, stav zatkom, itd.). Prikupljeni su uzorci posteljičnog tkiva iz centralnog dijela posteljica istraživane i kontrolne skupine trudnica, te je analiziran sadržaj pojedinih frakcija lipida u posteljičnom tkivu. Posteljično tkivo, bez decidue i krvnih žila koristilo se za određivanje sadržaja masnih kiselina. Nakon uzimanja uzoraka iz hladnjaka i postupka odleđivanja na sobnoj temperaturi pripremljeno posteljično tkivo je korišteno za postupak ekstrakcije lipida, za određivanje koncentracije masnih kiselina, koja je provedena modificiranom metodom prema Folch-u (287).

Ekstrakcija lipida je učinjena primjenom smjese kloroforma : metanola u različitim omjerima. Ekstrakcija se provodila s različitim smjesama otapala kako bi polarni i nepolarni lipidi prešli u otapalo. Sljedeći dan uzorak je filtriran u prethodno izvaganu epruvetu, te je slijedilo uparavanje otapala u Büchijevom uparivaču. Sadržaj epruvete se vagao i tako se odredila masa ukupnih lipida. Za određivanje točnog udjela ukupnih lipida korištena je heptadekanska kiselina, kao interni standard. Heptadekanska kiselina C 17:0 dodaje se kao interni standard, zbog određivanja udjela pojedinih masnih kiselina u frakcijama fosfolipida (PL), slobodnih masnih kiselina (SMK/FFA), triacilglicerola/triglicerida (TAG/TG) i estera kolesterola (CE/EC). Ostatak je nanošen na preparativnu staklenu ploču za tankoslojnu kromatografiju.

Postupak razdvajanja frakcija lipida proveden je metodom tankoslojne kromatografije **TLC** – *Thin Layer Chromatography*. Frakcije su identificirane uspoređivanjem sa standardom (brzina putovanja nepoznate frakcije jednaka je brzini putovanja poznatog standarda). Nakon TCL-a sa ploče su sastrugane frakcije CE, TAG/TG, SMK/FFA i CH (slika br. 3) u epruvete za centrifugiranje. Uzorci su potom pripremljeni za transesterifikaciju (metanolizu). Transesterifikacija je postupak pri kojem masne kiseline prelaze u oblik metilnih estera FAME – Fatty Acid Methyl Ester (292,293). U tom se obliku određuje sastav masnih kiselina; tj. postupak određivanja sadržaja lipida proveden je metodom plinske kromatografije **GC** - *Gas Chromatography*. Pri transesterifikaciji dolazi do kidanja postojećih esterskih veza u frakcijama lipida (CE, TAG/TG, PL) i stvaranja esterskih veza između masnih kiselina

iz tih frakcija, kao i SMK/FFA i metanola pri čemu se stvaraju metilni esteri masnih kiselina (FAME) (293). Plinska kromatografija je izvedena na kromatografu SRI 8610C GAS CHROMATOGRAPH (slika br. 4), proizvod: „SRI Instruments Chromatography Systems, Torrance, CA, USA“, opremljen softverom Peak Simple za Windows-e. Za plinsku kromatografiju su korištene 30 M Quadrex kolone Cat. No. 007-23-30-0.25F, FSCC/Fused Silica Capillary Column, proizvođač: „Quadrex Corporation, Woodbridge, USA“. Kolone su promjera 0,25 mm impregnirane tankim slojem 78% cyanopropyl-methyl-polysiloxan-om debljine 0,25 μm. Kolone su specifične i idealne za razdvajanje cis/trans izomera metilnih estera masnih kiselina (FAME). Prilagođeno je vrijeme zadržavanja tzv. retencijsko vrijeme (R_t') i prilagođen je volumen zadržavanja tzv. retencijski volumen (V_R). Termostatirani prostor kromatografske kolone održava temperaturu u rasponu od nekoliko desetinki ^oC.

Prolaskom uzorka kroz kromatografsku kolonu određuje se sastav masnih kiselina, koji se pouzdano očitava na nedestruktivnom FID detektoru GC-a, koji ima osjetljivost 10^{-8}-10^{-15}g sastojka/mL plina nositelja. Rezultati su preko pojačala vezani za PC registriraju se odazivom detektora kroz faktor vrijeme, te su bili ispisani na ekranu s različitim amplitudama (pikovima) u obliku kromatograma, koji su predstavljali vrijednosti registriranih masnih kiselina. Identifikacija metilnih estera masnih kiselina određena je usporedbom s poznatim standardom metilnog estera.

Rezultati provedenog istraživanja bili su sljedeći:

- ukupni lipidi u uzorcima posteljica su bili manje odlagani u posteljice trudnica s tipom 1 šećerne bolesti, nego u kontrolnoj skupini zdravih trudnica, razlika nije bila statistički značajna. U ukupnim lipidima najzastupljeniji su bili ukupni fosfolipidi, zatim ukupne slobodne masne kiseline, ukupni kolesterol-esteri, a najmanje zastupljeni su bili ukupni triacilgliceroli/trigliceridi. Statistički značajne razlike bile su prisutne u skupini ukupnih slobodnih masnih kiselina i u skupini ukupnih kolesterol-estera. Bilo je statistički značajno manje ukupnih slobodnih masnih kiselina i statistički značajno manje ukupnih kolesterol-estera u ukupnim lipidima, kod trudnica s tipom 1 šećerne bolesti, nego u kontrolnoj skupini trudnica. Skupina ukupnih fosfolipida i skupina ukupnih triglicerida bila je manje zastupljena u istraživanoj, nego u kontrolnoj skupini trudnica, ali bez statistički značajne razlike.

- u ukupnim lipidima je određena zastupljenost svake pojedine masne kiseline u istraživanoj i kontrolnoj skupini trudnica, čija je zastupljenost međusobno uspoređena.

- u skupini *ukupnih fosfolipida* je bila statistički značajna razlika u zastupljenosti miristinske C 14:0 i lignocerinske C 24:0 masne kiseline. Miristinska C 14:0 masna kiselina je bila statistički značajno više zastupljena u trudnica s tipom 1 šećerne bolesti, nego u kontrolnoj skupini trudnica. Lignocerinska C 24:0 masna kiselina je bila statistički značajno manje zastupljena u trudnica s tipom 1 šećerne bolesti, nego u kontrolnoj skupini trudnica.

- u skupini *ukupnih triacilglicerola/triglicerida* bilo je statistički značajno više laurinske C 12:0 masne kiseline u trudnica s tipom 1 šećerne bolesti, nego u kontrolnoj skupini trudnica. Statistički značajno manje je bilo dokozaheksaenske C 22:6 n-3 i lignocerinske C 24:0 masne kiseline u trudnica s tipom 1 šećerne bolesti, nego u kontrolnoj skupini trudnica.

- *ukupne slobodne masne kiseline* su bile statistički značajno manje zastupljene u posteljicama trudnica s tipom 1 šećerne bolesti, nego u kontrolnoj skupini trudnica. U skupini ukupnih slobodnih masnih kiselina bilo je više statistički značajnih razlika u zastupljenosti pojedinih masnih kiselina između istraživane i kontrolne skupine trudnica. Statistički značajno više je bilo samo laurinske C 12:0 masne kiseline, a statistički značajno manje palmitinske C 16:0, stearinske C 18:0, oleinske C 18:1 n-9, miristoleinske C 14:1 n-5, linolne C 18:2 n-6 i dokozaheksaenske C 22:6 n-3 masne kiseline u posteljicama trudnica s tipom 1 šećerne bolesti, nego u trudnica kontrolne skupine.

- u skupini *ukupnih kolesterol-estera* bilo je statistički značajno više samo laurinske C 12:0 masne kiseline, a statistički značajno manje palmitinske C 16:0, linolne C 18:2 n-6, lignocerinske C 24:0, dokozaheksaenske C 22:6 n-3, stearinske C 18:0 i miristoleinske C 14:1 n-5 masne kiseline u posteljicama trudnica s tipom 1 šećerne bolesti, nego u posteljicama kontrolne skupine trudnica.

Na promjene sadržaja lipida u posteljicama trudnica s tipom 1 šećerne bolesti vjerojatno se odrazila i striktna regulacija glikemije s višekratnim davanjem inzulina, dijabetička dijeta, te dijetalne preporuke. Dijabetička dijeta od 1800 kcal, uz striktnu

regulaciju glikemije inzulinom, te preporučene modifikacije prehrane u dijabetičkih trudnica sa zamjenom određene količine ugljikohidrata drugim nutritijentima vjerojatno se specifično odrazila na sastav lipida posteljice. Zbog navedenog djelovanja dolazi do promjena u sastavu masnih kiselina u pojedinim frakcijama lipida posteljice, kod nekih na razini statistički značajnih razlika, a kod drugih promjena bez statistički značajnih razlika. Više ili statistički značajno više su bile zastupljene samo masne kiseline sa manjim brojem ugljikovih atoma u lancu karboksilne kiseline, dok su karboksilne kiseline s većim brojem ugljikovih atoma (dugolančane masne kiseline) bile manje zastupljene u uzorcima posteljica, i istraživane i kontrolne skupine trudnica.

Na osnovi svega se može pretpostaviti, da je sastav masnih kiselina određen s više čimbenika, pri čemu može doći do međusobne supstitucije u zastupljenosti pojedinih masnih kiselina. Dijabetička dijeta u jednom stalnom dinamičkom metaboličkom sustavu, poput dijabetesa u trudnica s tipom 1 šećerne bolesti održava stabilnost stanične membrane, koja je zadužena za fluidnost i transport pojedinih frakcija lipida, te na taj način održava njihov međusobni omjer, što predstavlja osnovni parametar za propusnost, te funkciju svake stanice u posteljici. Stabilan metabolizam ugljikohidrata i dobra regulacija glikemije u trudnica s tipom 1 šećerne bolesti na taj način vjerojatno može smanjiti oštećenja staničnih organela, oštećenja stanične membrane, oštećenja inkorporiranih lipida u staničnoj membrani, a s tim istovremeno smanjiti i veće odlaganje lipida u posteljično tkivo. S takvom regulacijom se usporedno smanjuje i veća učestalost sekundarnih komplikacija osnovne bolesti.

8. SUMMARY:

The Content of Lipids in the Placenta of the Pregnant Women with Type 1 of the Diabetes Mellitus

The research was created on the basis of the knowledge gained about the influence of the diabetes mellitus type 1 on the local metabolism of the lipids in the placenta of the pregnant women with diabetes mellitus, which is still not studied thoroughly. In general, the data acquired on the content of the lipids in the placenta of the pregnant women are insufficient and not studied deeply enough. The main aim of this investigation is to determine quantitative and qualitative content of lipids in micrograms on 1 gram of the humid tissue of the placenta and register their percentage (%) in the individual groups of lipids; as well as the ratio of the fatty acid in each lipid group. Special interest is devoted to the study of the influence of the type 1 diabetes on the pregnant women themselves, their unborn children and the placenta tissue. Baring in mind that in the studies done so far there are no real papers studying the influence of the well regulated glycemia at pregnant women suffering type 1 diabetes mellitus on the lipid content in their placenta, we decided to enroll two groups of pregnant women.

The first group consisting of 38 pregnant women suffering type 1 diabetes mellitus were the study group; and the other group - called control group - was represented by 34 healthy pregnant women. We took the general data from all the women: the first day of the last menstrual period, and the pregnancy was proved by determining the value of β-HCG (human chorionic gonadothropin, beta-subunit) within 14 days after the missing period. The pregnant women were received in RCZDT (Referral center for diabetes in pregnancy) several times during their pregnancy in order to perform clinical surveillance, ultrasound checkup and laboratory analyses. We determined the pregnancy to be normal or disturbed according to the determination of the β-HCG. During the embryonic development the CRL – crown rump length was measured as well as thereafter the fetal biometry. The first morning glucose level average was measured; the average of all the mean values of the postprandial level of the large glucose profiles was also measured and compared to the values of HbA1c.

The quality of the glycemia regulation was controlled by determining the glycosylated (or glycated) hemoglobin A_1c / HbA_1c. The pregnant women were invited to regular stays in RCZDT. The exact evaluation of the gestation is done by comparing the first day of the last menstrual period and clinical evaluation of the pregnancy and then compared to the ultrasound findings. All the pregnancies from the studied and control group were finished by the caesarean at the term, after the fetal maturity was proved and the indications for the caesarean section done. The samples of the placenta tissue were collected from the central part of placenta of both groups of women. On those samples the content of the individual groups of lipids in the placenta tissue is studied. The placenta tissue without decidua and blood vessels was used to determine the content of the fatty acids. After taking the samples from the fridge unit and the procedure of defrosting them on the room temperature, the so prepared placenta tissue was used in the lipid extraction process in order to determine the concentration of the fatty acids done by the modified Folch method (287). The extraction of the lipids is done by the use of chloroform mixture : methanol in different ratios. The extraction was performed by the means of different solvents' mixtures in order to gain polar and non-polar lipids into solvent. The following day the sample was filtrated into the test tube, already balanced and soon after that the solvent was steamed in the Büchi steamer. The content of the test tube was weighted and mass of the total lipids was seen.

In order to determine the precise ratio of the total lipids the heptadecanoic (margaric) acid was used as internal standard. Heptadecanoic (margaric) acid C 17:0 is added as internal standard in order to determine the ration of the individual fatty acids in the phospholipids (PL), free fatty acids (FFA), triacylglycerols/triglycerides (TAG/TG) and ester of the cholesterol (CE) fractions. The rest was build up on the preparative glass plate for thin-film chromatography.

The procedure of dividing the lipid fractions was done by the thin-film chromatography method TLC – Thin Layer Chromatography. The fractions were identified by the comparison with the standard (the traveling speed of the unknown fraction equals to the traveling speed of the known standard). After TLC was performed the fractions CE, TAG/TG, FFA i CH were taken from the glass plate (picture 3.) into the test tubes for centrifuging. Samples are after that prepared for the transesterification

with methanol (methanolysis). Transesterification is the procedure by which the fatty acids turn into methyl ester FAME – Fatty Acid Methyl Ester (292,293). In this form we can determine the content of the fatty acids; the procedure of determination of the lipid content is done by the method of gas chromatography **GC** - *Gas Chromatography*. Gas chromatography **GC** was performed on chromatograph SRI 8610 GAS CHROMATOGRAPH (picture number 4), which is product of SRI Instruments Chromatography Systems, Torrance, CA, USA equipped with software Peak Simple for Windows. We served 30M Quadrex column Cat. No. 007-23-30-0.25F, FSCC/Fused Silica Capillary Column, product of Quadrex Corporation, Woodbridge, USA. Column diameter was 0,25 milimeter and impregnated with thin layer of 78% cyanopropyl-methyl-polysiloxan and 0,25 μm thickness. The results of the research done were as follows:

- The total mass of lipids in the placenta samples were less represented in the placenta of the pregnant women suffering diabetes mellitus type 1 compared to the group of healthy pregnant women. The difference was not statistically significant. In the total number of lipids the most frequent were phospholipids, followed by total free fatty acids, then total cholesterolesters and in the smallest amount were triacylglycerols/triglycerides. The statistically significant difference is found in the group of total free fatty acids and in the group of total cholesterol esters: less number of total fatty acids and cholesterol esters at the pregnant women suffering from diabetes– type 1, than at women belonging to the control group. The total phospholipids was found and the group of triacylglycerols/triglycerides were less represented in the studied group than in the control group, but with no statistical significant difference.

- The presence of each individual fatty acid was determined in the studied and control group of pregnant women.

- In the group of total phospholipids there was statistically significant difference in the presence of myristic C 14:0 and lignoceric C 24:0 fatty acid. The myristic C 14:0 fatty acid was much more present in the pregnant women suffering from diabetes – type 1 than in the control group. Lignoceric fatty acid C 24:0 was statistically less present in the group of pregnant women suffering diabetes than at the women belonging to the control group.

- In the group of triacylglycerols/triglycerides there was statistically more lauric C 12:0 fatty acids at the pregnant women with type 1 diabetes mellitus compared to the control group women. Statistically significant less number of docosahexaenoic C 22:6 n-3 acid and lignoceric C 24:0 fatty acids at the pregnant women with type 1 diabetes mellitus compared to the results received in the control group.

- The total free fatty acids were statistically less present in the placenta of the pregnant women suffering diabetes mellitus type 1 compared again to the control group. In this group of total free fatty acids there were more important statistical differences in the presence of the individual fatty acids compared to the control group. Statistical significant higher quantity was established in lauric C 12:0 fatty acid, whereas lower quantity of the palmitic C 16:0; stearic C 18:0; oleic C 18:1 n-9; miristoleic C 14:1 n-5, linoleic C 18:2 n-6 and docosahexaenoic fatty acid C 22:6 n-3 have been found within the placenta of the pregnant women suffering from diabetes mellitus type 1 compared to the quantities obtained in the placenta of the women in the control group.

- In the group of total cholesterol-esters there was significantly more lauric C 12:0 fatty acid and significantly less palmitic C 16:0; linoleic C 18:2 n-6; lignoceric C 24:0; docosahexaenoic fatty acid C 22:6 n-3; stearic 18:0 and miristoleic C 14:1 n-5 fatty acids in the placenta samples taken from the pregnant women suffering from the diabetes mellitus type 1 compared to the placenta samples of the women in the control group.

Strict regulation of glycemia probably had influence on the changes in the content of the lipids in the placenta of the pregnant women suffering diabetes mellitus type 1. Regulation of glycemia was done by repeated insulin injection, diabetes diets and recommended special diet for the pregnant women suffering diabetes mellitus. The diet for diabetes patients consisting of 1800 kcal followed by the strict glycemia regulation with insulin and recommended food habits changements where a certain quantities of carbohydrates are interchanged with other nutrients, could have a specific influence on the content of placenta lipids. Due to the above mentioned actions certain changes happen in the composition of the fatty acids in the individual fractions of the placenta lipids. Some changes are of statistical importance and some do not undergo

any statistically important changes. Statistically important changes are noticed in the presence of fatty acids with smaller number of carbon atoms in the carboxyl acid chain. At the carboxyl acids with the larger number of carbon atoms (longer chain fatty acids) had smaller presence in the placenta samples in both groups of the pregnant women.

On the basis of the given experiments we can presume that the composition of the fatty acids is determined with more than one factor. We have to bare in mind that the interactive substitution can take place within the presence of the individual fatty acids. The diabetes diet in the permanent metabolic system, like the one found with the pregnant women suffering diabetes mellitus type 1 possibly maintains the stability of the cellular membrane. This membrane is in charge of fluidity and transport of the individual lipid fractions keeping their ration which is at the same time the basic parameter for penetration and function of the each cell within placenta. The stabile metabolism of the carbohydrates and good glycemia regulation at the pregnant women suffering diabetes mellitus type 1 can in this manner lower the lesion of the cell organelle, lesion of the cellular membrane, the damage of the incorporative lipids within the cellular membrane and at the same time lower the higher level of lipids sedimentation in the placenta tissue. This regulation also lower the frequency of the secondary complication of the main disease.

M.S. Vito Starčević M.D.
KBC – Zagreb
Department of Obst. & Gyn.
Referral center for diabetes in pregnancy (RCZDT)
Ministry of health and social affairs (MZ RH)
Medical School University of Zagreb
Petrova 13
10000 Zagreb
Tel / Fax +385 1 4604 740
Fax ++385 1 2445 045
E-Mail vito.starcevic@zg.t-com.hr

9. Popis literature:

Literatura:

1. Buchanan TA. Carbohydrate metabolism in pregnancy: normal physiology and implications for diabetes mellitus. Isr J Med 1991; 27: 432.
2. Ryann EA, Enns L. Role of gestational hormones in the induction of insulin resistance. J Clin Endocrinol Metab 1988; 67: 341.
3. Ryann EA, O′Sullivan MJ, Skyler JS. Insulin action during pregnancy. Studies with the euglycemic glucose clamp technique. Diabetes 1985; 34: 380.
4. Felig P, Lynch V. Starvation in human pregnancy: hypoglycemia, hypoinsulinemia and hyperketonemia. Science 1970; 170: 990.
5. Felig P, Kim YJ, Lynch V, Hendler R. Amino acid metabolism during starvation in human pregnancy. J Clin Invest 1972; 51: 1195.
6. Buchnann TA, Metzger BE, Freinkel N. Accelerated starvation and the skipped breakfast in late normal pregnancy. Lancet 1982; 1: 588.
7. Howard BV. Lipoprotein metabolism in diabetes mellitus. J Lipid Res 1987; 28: 613.
8. Reece EA, Coustan DR, Sherwin RS. Does intensive glycemic control in diabetic pregnancies result in normalisation of other metabolic fuels? Am J Obstet Gynecol 1991; 165: 126.
9. Foster DW, Mc Garry JD. The metabolic derangements and treatment of diabetic ketoacidosis. N Engl J Med 1983; 309: 159.
10. Montoro MN, Meyers VP, Mestman JH. Outcome of pregnancy in diabetic ketoacidosis. Am J Perinatol 1993; 10: 17.
11. Herrera E. Metabolic adaptations in pregnancy and their implications for the availability of substrates to the fetus. Euro J Clin Nutr 2000; 54 (Suppl 1): S47-S51.
12. Illsey NP. Glucose transporters in the human placenta. Placenta 2000; 21: 14-22.
13. Kaufmann P, Scheffen I. Placental development. In: Fetal and Neonatal Physiology, edited by Polin RA, Fox F. New York: Saunders, 1999, p. 47-56.
14. Dražančić A. Dijabetes i trudnoća. Gynaecol Perinatal 1994; 3 suppl 1: 15-29.
15. Jansson T, Wennergren M, Illsey NP. Glucose transporter protein expression in human placenta throughout gestation and in intrauterine growth retardation. J Clin Endocrinol Metab 1993; 77: 1554-1562.
16. Hahn T, Barth S, Weiss U, Mosgoeller W, Desoye G. Sustained hyperglycemia in vitro down-regulates the GLUT 1 glucose transport system of cultured human term placental trophoblast: a mechanism to protect fetal development? FASEB J 1998; 12: 1221-31.

17. Hahn T, Hahn D, Blaschitz A, Korgun ET, Desoye G, Dohr G. Hyperglycemia-induced subcellular redistribution of GLUT 1 glucose transporters in cultured human term placental trophoblast cells. Diabetologia 2000; 43: 173-80.
18. Jansson T, Wennergren M, Powell TL. Placental glucose transport and GLUT 1 expression in insulin-dependent diabetes. Am J Obstet Gynecol 1999; 180: 163-168.
19. Đelmiš J. Clinical Management of Pregnancies Complicated with Type 1/Type 2 Diabetes mellitus. In: Diabetology of Pregnancy, edited by Đelmiš J, Desoye G, Ivanišević M. Basel, Karger, 2005, pp 161-173.
20. Hill DJ, Petrik J, Arnay E. Growth factors and the regulation of fetal growth. Diabetes Care 1998; 21 (Suppl 2): B60-69.
21. Haguel-de Mouzon S, Lepercq J. Leptine placentaire et pathologies de la grossesse. Gynec Obstet Fertil 2001; 29(7-8): 534-537.
22. Pinar H, Pinar T, Singer DB. Beta-cell hyperplasia in macrosomic infants and fetuses on nondiabetic mothers. Ped Develop Pathol 2000; 3(1): 48-52.
23. Plagemann A, Harder T, Kohlhoff R, Rohde W, Dorner G. Overweight and obesity in infants of mothers with long-term insulin-dependent diabetes or gestational diabetes. Int J Obesity Rel Met Dis 1997; 21(6): 451-456.
24. Hardy DS. A multiethnic study of the predictors of macrosomia. Diabetes Educator 1999; 25(6): 925-933.
25. Lepercq J, Lahlou N, Timsit J, Girard J, Mouzon SH. Macrosomia revisited: ponderal index and leptin delineate subtype of fetal overgrowth. Am J Obst Gyn 1999; 181(3): 621-625.
26. Lepercq J, Timsit J, Mouzon SH. Ethiopatogenie de la macrosomie foetale. J Gyn Obst Biol Reprod 2000; 29 (Suppl 1): 6-12.
27. D′Ercole AJ. Mechanism of in utero overgrowth. Acta Paediat 1999; Supplement 88(428): 31-36.
28. Harrington K, Campbell S. Fetal size and growth. Curr Op Gynecol 1993; 5(2): 186-194.
29. Mc Farland MB, Trylovich CG, Langer O. Anthropometric differences in macrosomic infants of diabetic and nondiabetic mothers. J Mat-Fet Med 1998; 7(6): 292-295.
30. Catalano PM, Thomas AJ, Huston LP, Fung CM. Effect of maternal metabolism on fetal growth and body composition. Diabetes Care 1998; 21(Suppl 2): B85-90.
31. Naeye RL. Infants of diabetic mothers – a quantitative morphologic study. Pediatrics 1965; 35: 980.
32. Đelmiš J, Pfeifer D, Ivanišević M, Mayer D. Significance of disproportionate macrosomia in gestational diabetic pregnancies. Book of Abstracts of the 32nd Annual Meeting of the Diabetic Pregnancy Study Group of the EASD, Nof Ginosar, 21-24. september 2000, p. 33.
33. Milner RD, Hill DJ. Fetal growth control: the role of insulin and related peptides. Clin Endocrinol 1984; 21(4): 415-433.

34. Honda M, Toyoda C, Nakabayashi M, Omori Y. Quantitative investigations of placental terminal villi in maternal diabetes mellitus by scanning and transmission electron microscopy. Tohoku J Exp Med 1992; 167(4): 247-257.
35. Sadler TW. Langman′s medical embryology. 7th ed. Williams & Wilkins, Baltimore, 1995.
36. Kos M, Vogel M: Morphological findings in infants and placentas of diabetic mothers; in Đelmiš J, Desoye G, Ivanišević M (eds): Diabetology of Pregnancy. Basel, Karger, 2005, pp 127-143.
37. Kurman RJ, Main CWS, Chen HC. Intermediate trophoblast: A discintive form of trophoblast with specific morphological, biochemical and functional features. Placenta 1984; 5: 349.
38. Moore KL. The developing human. Fifth edition. WB Saunders, Philadelphia, 1993.
39. Kalousek DK, Lau AE, Baldwin VJ. Development of the Embryo, Fetus and Placenta. In: Development Pathology of the Embryo and Fetus. Dimmick JE, Kalousek DK. eds. Lippincott JB Company, Philadelphia, p. 1-25, 1992.
40. Lao TT, Lee CP, Wong WM. Placental weight to birthweight ratio is increased in mild gestational glucose intolerance. Placenta 1997; 18: 227-30.
41. Clarson C, Tevaarwerk GJM, Harding PGR, Chance GW, Haust MD. Placental weight in diabetic pregnancies. Placenta 1989; 10: 275-81.
42. Stanek J, Eis AL, Myatt L. Nitrotyrosine immunostaining correlates with increased extracellular matrix: evidence of postplacental hypoxia. Placenta 2001; 22 (suppl A): S 56-62.
43. Kliman HJ. The Placenta Revealed. Amer J Pathol 1993; 143: 332-36.
44. Desoye G, Hofmann HH, Weiss PA. Insulin binding to trophoblast plasma membranes and placental glycogen content in well-controlled gestational diabetic women treated with diet or insulin, in well-controlled overt diabetic patients and in healthy control subjects. Diabetologia 1992;35:45-55.
45. Desoye G, Shafrir E. The human placenta in diabetic pregnancy. Diabet Rev 1996;4:70-89.
46. Hauguel-de Mouzon S, Shafrir E. Carbohydrate and fat metabolism and related hormonal regulation in normal and diabetic placenta. Placenta 2001;22:619-627.
47. Benirschke K, Kaufmann P. Pathology of the Human Placenta. 4th ed. New York: Springer, 2002.
48. Shaw LM. Identification of insulin receptor substrate I (IRS-I) and IRS-2 as signaling intermediates in the alpha-6-beta-4-integrin dependent activation of phosphoinositide 3-OH kinase and promotion of invasion. Mol Cell Biol 2001;21:5082-5093.
49. Castellucci M, De Matteis R, Meisser A, Cancello R, Monsurrò V, Islami D,Sarzani R, Marzioni D, Cinti S, Bischof P. Leptin modulates

extracellular matrix molecules and metalloproteinases: possible implications for trophoblast invasion. Mol Hum Reprod 2000;6:951-958.
50. Staff AC, Ranheim T, Henriksen T, Halvorsen B. 8-iso-prostaglandin f(2 alpha) reduces trophoblast invasion and matrix metalloproteinase activity. Hypertension 2000;35:1307-1313.
51. Skrha J. Pathogenesis of angiopathy in diabetes. Acta Diabetol 2003;40 (suppl 2):S324-329.
52. Bjork O, Persson B. Placental changes in relation to the degree of metabolic control in diabetes mellitus. Placenta 1982;3:367-378.
53. Brown ZA, Mills JL, Metzger BE, Knopp RH, Simpson JL, Jovanovic-Peterson L, Scheer K, Van Allen MI, Aarons JH, Reed GF. Early sonographic evaluation for fetal growth delay and congenital malformations in pregnancies complicated by insulin-requiring diabetes. Diabetes Care 1992;15:613-619.
54. Pedersen JF, Molsted-Pedersen L, Lebech PE. Is the early growth delay in the diabetic pregnancy accompanied by a delay in placental development? Acta Obstet Gynecol Scand 1986;65(7):675-7.
55. Kaufmann, P, and Scheffen I. Placental development. In: Fetal and Neonatal Physiology, edited by Polin RA, and Fox F.. New York: Saunders, 1999, p. 47-56.
56. Desoye G, Weiss U, Schmut O, et al. Distinct effects of hyperglycemia in vitro on trophoblast proliferation and mitochondrial activity of placental trophoblasts at various stages of first trimester human pregnancy. Diabetes 2000;49(suppl 1):A.49.
57. Mayhew TM, Sorensen FB, Klebe JG, Jackson MR. Growth and maturation of villi in placentae from well-controlled diabetic women. Placenta 1994;15:57-65.
58. Altshuler G. Chorangiosis: an important placental sign of neonatal morbidity and mortality. Arch Pathol Lab Med 1984;108:71-74.
59. Arany E, Hill DJ. Fibroblast growth factor-2 and fibroblast growth factor receptor-1 mRNA expression and peptide localisation in placentae from normal and diabetic pregnancies. Placenta 1998;19:133-142.
60. Younes B, Baez-Giangreco A, al-Nuaim L, al-Hakeem A, Abu Talib Z. Basement membrane thickening in the placentae from diabetic women. Pathol Int 1996;46:100-104.
61. Ioka H, Moriyama I, Kyuma M, et al. Nonenzymatic glucosylation of human placental trophoblast basement membrane colagen. Relation to diabetic pathology. Acta Obstet Gynaecol Jpn 1987;39:400-404.
62. Lakin V, Haggarty P, Abramovich DR, Ashton J, Moffat CF, McNeill G, Danielian PJ, Grubb D. Dietary intake and tissue concentration of fatty acids in omnivore, vegetarian and diabetic pregnancy. Prostagland Leukot Essent Fatty Acids 1998;59:209-220.
63. Conrad KP, Benyo DF, Westerhausen-Larsen A, Miles TM. Expression of erythropoietin by the human placenta. FASEB J 1996;10:760-768.

64. Petry CD, Wobken JD, McKay H, Eaton MA, Seybold VS, Johnson DE, Georgieff MK. Placental transferin receptor in diabetic pregnancies with increased fetal iron demand. Am J Physiol 1994;267:E507-514.
65. Georgieff MK, Berry SA, Wobken JD, Leibold EA. Increased placental iron regulatory protein-1 expression in diabetic pregnancies complicated by fetal iron deficiency. Placenta 1999;20:87-93.
66. Haugel-de Mouzon S, Challier JC, Kacemi A, et al. The GLUT3 glucose transporter isoform is differentially expressed within human placental cell types. J Clin Endocrinol Metab 1997;82:2689-2694.
67. Gude NM, Rogers S, Best JD, et al. Reduced glucose uptake and expression of a novel glucose transporter in placentas from gestational diabetic pregnancies. Placenta 2001;22:A.56.
68. Hahn T, Hartmann M, Blaschitz A, Skofitsch G, Graf R, Dohr G, Desoye G. Localisation of the high affinity faciitative glucose transporter protein GLUT1 in the placenta of human, marmoset monkey and rat at different developmental stages. Cell Tissue Res 1995;280:49-57.
69. Woods IS, Trayhurn P. Glucose transporters (GLUT and SGLT): expanded families of sugar transport proteins. Br J Nutr 2003; 89(1): 3-9.
70. Kim MH, Kino-Oka M, Kawase M, Yagi K, Taya M. Synergistic effect of D-glucose and epidermal growth factor display on dynamic behaviors of human epithelial cells. J Biosci Bioeng 2007;104(5):428-31.
71. Kim SH, Shin EJ, Kim ED, Bayaraa T, Frost SC, Hyun CK. Berberine activates GLUT1-mediated glucose uptake in 3T3-L1 adipocytes. Biol Pharm Bull 2007; 30(11): 2120-5.
72. Osmond DT, Nolan CJ, King RG, Brennecke SP, Gude NM. Effects of gestational diabetes on human placental glucose uptake, transfer and utilisation. Diabetologia 2000;43:576-582.
73. Schneider H, Reiber W, Sager R,Malek A. Asymmetrical transport of glucose across the in vitro perfused human placenta. Placenta 2003;24:27-33.
74. Robb SA, Hytten FE. Placental glycogen. Placenta 1976;83:43-53.
75. Jones CJP, Desoye G. Glycogen distribution in the capillaries of the placental villus in normal, overt, and gestational diabetic pregnancy. Placenta 1993;14:505-517.
76. Watermann IJ, Emmision N, Duta-Roy AK. Characterisation of triacylglycerol hydrolase activities in human placenta. Biochim Biophys Acta 1997;1394:169-176.
77. Kaminsky S, Sibley P, Maresh M, et al. The effects of diabetes on placental lipase activity in the rat and human. Pediatr Res 1992;30:541-543.
78. Kamnisky S, D'Souza SW, Massey RF, Smart JL, Sibley CP. Effect of maternal undernutrition and uterine artery ligation on placental lipase activities in the rat. Biol Neonate 1991;60:201-206.

79. Hull D, Elphick MC. Evidence for fatty acid transfer across the human placenta. Ciba Found Symp 1979;63:75-91.
80. Hendrickse W, Stammers JP, Hull D. The transfer of free fatty acids across the human placenta. Br J Obstet Gynaecol 1985;92:945-952.
81. Larque E, Demmelmair H, Berger B, Hasbargen U, Koletzko B. In vivo investigation of the placental transfer of ^{13}C-labeled fatty acids in human. J Lipid Res 2002; 44: 49-55.
82. Kuhn DC, Botti JJ, Cherouny PH, Demers LM. Eicosanoid production and transfer in the placenta of the diabetic pregnancy. Prostaglandins 1990;40:205-215.
83. Kilby MD, Neary RH, Mackness MI, Durrington PN. Fetal and maternal lipoprotein metabolism in human pregnancy complicated by type I diabetes mellitus. J Clin Endocrinol Metab 1998;83:1736-1741.
84. Ogburn PL Jr, Rejeshwari M, Turner SI, Hoegsberg B, Haning RV. Lipid and glucose metabolism in human placental culture. Am J Obstet Gynecol 1988;159:629-635.
85. Wadsack C, Hammer A, Levak-Frank S, Desoye G, Kozarsky KF, Hirschmugl B, Sattler W, Malle E. The selective cholesteryl ester uptake from high-density lipoprotein by human first trimester and term trophoblast. A preferential routing for cholesteryl ester supply during fetal development? Placenta 2003;24:131-143.
86. Lafond J, Charest MC, Alain JF, Brissette L, Masse A, Robidoux J, Simoneau L. Presence of CLA-1 and HDL binding sites on syncytiotrophoblast brush border and basal plasma membranes of human placenta. Placenta 1999;20:583-590.
87. Christensen HN. Role of amino acid transport and counter-transport in nutrition and metabolism. Physiol Rev 1990;70:43-77.
88. Kuruvilla AG, D'Souza SW, Glazier JD, Mahendran M, Maresh MJ, Sibley CP. Altered activity of the system A amino acid transporter in microvillous membrane vesicles from placentas of macrosomic babies born to diabetic women. J Clin Invest 1994;94:689-695.
89. Desoye G, Hartmann M, Blaschitz A, Dohr G, Hahn T, Kohnen G, Kaufman P. Insulin receptors in syncytiotrophoblast and fetal endothelium of human placenta. Immunohistochemical evidence for developmental changes in distribution pattern. Histochemistry 1994;101:277-285.
90. Zolese G, Rabini RA, Fumelli P, Staffolani R, Curatola A, Kvasnicka P, Kotyk A, Cester N, Mazzanti L. Modifications induced by insulin-dependent diabetes mellitus on human placental Na^+/K^+-adenosine triphosphatase. J Lab Clin Med 1997;130:374-380.
91. Susa JB, Neave C, Sehgal P, Singer DB, Zeller WP, Schwartz R. Chronic hyperinsulinemia in the fetal rhesus monkey. Effects of physiologic hyperinsulinemia on fetal growth and composition. Diabetes 1984;33:656-660.
92. Clarson C, Tevaarwerk GJ, Harding PG, Chance GW, Haust MD. Placental weight in diabetic pregnancies. Placenta 1989;10:275-281.

93. Dickie JM, Henderson GI. Placental amino acid uptake in normal and complicated pregnancies. Am J Med Sci 1988;295:223-227.
94. Diamant YZ, Kissilevitz R, Shafrir E. Changes in the activity of enzymes related to glycolysis, gluconeogenesis and lipogenesis in placentae from diabetic women. Placenta 1984;5:55-60.
95. Osses N, Sobrevila L, Cordova C, et al. Transport and metabolism of adenosine in diabetic human placenta. Reprod Fertil Dev 1995;7:1499-1503.
96. Wang YP, Walsh SW, Guo JD, Zhang JY. Maternal levels of prostacyclin, thromboxane, vitamin E, and lipid peroxides throughout normal pregnancy. Am J Obstet Gynecol 1991;165:1690-1694.
97. Many A, Hubel CA, Fisher SJ, Roberts JM, Zhou Y. Invasive cytotrophoblasts manifest evidence of oxidative stress in preeclampsia. Am J Pathol 2000;156:321-331.
98. Nishikawa T, Edelstein D, Du XL, Yamagishi S, Matsumura T, Kaneda Y, Yorek MA, Beebe D, Oates PJ, Hammes HP, Giardino I, Brownlee M. Normalizing mitochondrial superoxide production blocks three pathways of hyperglycaemic damage. Nature 2000;404:787-790.
99. Morrow JD. The isoprostanes - unique products of arachidonate peroxidation: their role as mediators of oxidant stress. Curr Pharm Des 2006;12(8): 895-902.
100. Pedersen J, Molsted-Pedersen L. Prognosis of the outcome of pregnancy in diabetics. Acta Endocrinol 1965;50:70.
101. Desoye G, Kaufmann P: The human placenta in diabetes; in Djelmiš J, Desoye G, Ivanišević M (eds): Diabetology of Pregnancy. Basel, Karger, 2005, pp 94-109.
102. Lyall F, Gibson JL, Greer IA, Brockman DE, Eis AL, Myatt L. Increased nitrotyrosine in the diabetic placenta: evidence for oxidative stress. Diabetes Care 1998;21:1753-1758.
103. Schonfelder G, John M, Hopp H, Fuhr N, van Der Giet M, Paul M. Expression of inducibile nitric oxide synthase in placenta of women with gestational diabetes. FASEB J 1996;10:777-784.
104. Di Iulio JL, Gude NM, King RG, Li CG, Rand MJ, Brennecke SP. Human placental nitric oxide synthase activity is not altered in diabetes. Clin Sci (Lond) 1999;97:123-128.
105. Goda N, Suematsu M, Mukai M, Kiyokawa K, Natori M, Nozawa S, Ishimura Y. Modulation of mitochondrion-mediated oxidative stress by nitric oxide in human placental trophoblastic cells. Am J Physiol 1996;217:H1893-H1899.
106. Beckman JS, Beckman TW, Chen J, Marshall PA Freeman BA. Apparent hydroxyl radical production by peroxynitrite: Implications for endothelial injury from nitric oxide and superoxide. Proc Natl Acad Sci USA 1990;87:1620-1624.
107. Myatt L, Rosenfield RB, Eis AL, Brockman DE, Greer I, Lyall F. Nitrotyrosine residues in placenta. Evidence of peroxynitrite formation and action. Hypertension 1996;28:488-493.

108. Villa LM, Salas E, Darley-Usmar VM, Radomski MW, Moncada S. Peroxynitrite induces both vasodilatation and impaired vascular relaxation in the isolated perfused rat heart. Proc Natl Acad Sci USA 1994;91:12383-12387.
109. Benkusky NA, Lewis SJ, Kooy NW. Peroxynitrite-mediated attenuation of alpha- and beta-adrenoceptor agonist-induced vascular responses in vivo. Eur J Pharmacol 1999;364:151-158.
110. Buchnan AT, Kitzmiller JL. Metabolic interactions of diabetes and pregnancy. Annu Rev Med 1994;45:245-260.
111. Garner PR, D'Alton ME, Dudley DK, et al. Preeclampsia in diabetic pregnancies. Am J Obstet Gynecol 1990;163:505-508.
112. Moore TA. Fetal growth in diabetic pregnancy. Clin Obstet Gynecol 1997;40:771-786.
113. Kitzmiller JL, Watt N, Driscoll SG. Decidual arteriopathy in hypertension and diabetes in pregnancy: immunofluorescent studies. Am J Obstet Gynecol 1981;141:773-779.
114. Salvesen DR, Higueras MT, Mansur CA, Freeman J, Brudenell JM, Nicolaides KH. Placental and fetal Doppler velocimetry in pregnancies complicated by maternal diabetes mellitus. Am J Obstet Gynecol 1993;168:645-652.
115. Fadda GM, D'Antona D, Ambrosini G, Cherchi PL, Nardelli GB, Capobianco G, Dessole S. Placental and fetal pulsatility indicies in gestational diabetes mellitus. J Reprod Med 2001;46:365-370.
116. Roth JB, Thorp JA, Palmer SM, Brath PC, Walsh SW, Crandell SS. Response of placental vasculature to high glucose levels in the isolated human placental cotyledon. Am J Obstet Gynecol 1990;163:1828-1830.
117. Roberts DJ. Placental pathology, a survival guide. Arch Pathol Lab Med. 2008;132(4): 641-51.
118. Weiss U, Arikan G, Haas J, Cervar M, Desoye G. Hyperglycemia in vitro alters the invasion of trophoblast from human first trimester placenta into extracellular matrix. Diabetes 2000; 49 (Suppl 1): A316.
119. Diamant YZ, Metzger BE, Freinkel N, Shafrir E. Placental lipid and glycogen content in human and experimental diabetes mellitus. Am J Obstet Gynecol 1982; 144: 5-11.
120. Đelmiš J, Ivanišević M, Buković D. Placental lipid contents in gestational diabetic pregnancy. Coll Antropol 1994; 18: 323-27.
121. Herrera E, Lasuncion MA: Maternal-fetal transfer of lipid metabolites; in Polin RA, Fox WW, Abman SH (eds): Fetal and Neonatal Physiology, ed 3. Philadelphia, Saunders, 2004, pp 375-388.
122. Herrera E. Implications of dietary fatty acids during pregnancy on placental, fetal and postnatal development – A review. Placenta 2002; 23 (Suppl A): S9-S19.
123. Evers IM, de Valk HW, Visser GH. Risk of complications of pregnancy in women with type 1 diabetes: nationwide prospective study in the Netherlands. BMJ 2004; 328: 915.

124. Ramos P, Crespo-Solans MD, del Campo S, Herrera E. Fat accumulation in the rat during early pregnancy is modulated by enhanced insulin responsiveness. Am J Physiol Endocrinol Metab 2003; 285: E318-E328.
125. Cousins L. Insulin sensitivity in pregnancy. Diabetes 1991; 40: 39-43.
126. Pedersen J. Weight and lenght at birth of infants of diabetic mothers. Acta Endocrinol 1954; 16: 330-342.
127. Freinkel N, Metzger BE. Pregnancy as a tissue culture experience: The critical implications of maternal metabolism for fetal development. Excerpta Med Int Congr Sec 1979; 90: 3-27.
128. Knoop RH, Warth MR, Charles D. Lipoprotein metabolism in pregnancy, fat transport to the fetus and the effects of diabetes. Biol Neonate 1986; 50: 297-317.
129. Catalano PM, Tyzbir ED, Wolfe RR, Roman NM, Amini SB, Sims EAH. Longitudinal changes in basal hepatic glucose production and suppression during insulin infusion in normal pregnant women. Am J Obstet Gynecol 1992; 167: 913-919.
130. Butte NF. Carbohydrate and lipid metabolism in pregnancy: Normal compared with gestational diabetes mellitus. Am J Clin Nutr 2000; 71 (Suppl): 1256S.
131. Schoeman, MN, Batey RG, Wilcken B. Recurrent acute fatty liver of pregnancy associated with a fatty-acid oxidation defect in the offspring. Gastroenterology 1991; 100: 544-548.
132. Nascimento KF, Garcia RF, Gazola VA, de Souza HM, Obici S, Bazotte RB. Contribution of hepatic glycogenolysis and gluconeogenesis in the defense against short-term insulin induced hypoglycemia in rats. Life Sci 2008; 82(19-20): 1018-22.
133. Herrera E, Lasuncion MA, Palacin M, Zorzano A, Bonet B. Intermediary metabolism in pregnancy. First theme of the Freinkel era. Diabetes 1991; 40 (Suppl 2): 83-88.
134. Montelongo A, Lasuncion MA, Pallardo LF, Herrera E. Longitudinal study of plasma lipoproteins and hormones during pregnancy in normal and diabetic women. Diabetes 1992; 41: 1651-1659.
135. Jovanovic L, Metzger BE, Knopp RH, Conley MR, Park E, Lee YJ, Simpson JL, Holmes L, Aarons JH, Mills JL, et al. The diabetes in early pregnancy study – β-hydroxybutyrate levels in type 1 diabetic pregnancy compared with normal pregnancy. Diabetes Care 1998; 21: 1978-1984.
136. Kliman HJ, Feinberg RF. Human Trophoblast-Extracellular Matrix (ECM) Interactions Invitro - ECM Thickness Modulates Morphology and Proteolytic Activity. Proceedings of the National Academy of Scien 1990; 87: 3057-3061.
137. Desoye G, Hartmann M, Blaschniz A, Dohr G, Hahn T, Kohnen G, Kaufmann P. Insulin receptors in syncytiotrophoblast and fetal endothelium of human placenta. Immunohistochemical evidence for

developmental changes in distribution pattern. Histochemistry 1994; 101: 277-85.
138. Chaves JM, Herrera E. In vitro glycerol metabolism in adipose tissue from fasted pregnant rats. Biochem Biophys Res Commun 1978; 85: 1299-1306.
139. Williams C, Coltart TM. Adipose tissue metabolism in pregnancy: The lipolytic effect of human placental lactogen. Br J Obstet Gynaecol 1978; 85: 43-46.
140. Knopp RH, Herrera E, Freinkel N. Carbohydrate metabolism in pregnancy. VIII. Metabolism of adipose tissue isolated from fed and fasted pregnant rats during late gestation. J Clin Invest 1970; 49: 1438-1446.
141. Zorzano A, Lasuncion MA, Herrera E. Role of the availability of substrates of hepatic and renal gluconeogenesis in the fasted late pregnant rat. Metabolism 1986; 35: 297-303.
142. Alvarez JJ, Montelongo A, Iglesias A, Lasuncion MA, Herrera E. Longitudinal study on lipoprotein profile, high density lipoprotein subclass, and postheparin lipases during gestation in women. J Lipid Res 1996; 37: 299-308.
143. Iglesias A, Montelongo A, Herrera E, Lasuncion MA. Changes in cholesteryl ester transfer protein activity during normal gestation and postpartum. Clin Biochem 1994; 27: 63-68.
144. Herrera E, Amusquivar E, López-Soldado I, Ortega H. Maternal lipid metabolism and placental lipid transfer. Horm Res 2006; 65 Suppl 3: 59-64.
145. Herrera E. Lipid metabolism in pregnancy and its consequences in the fetus and newborn. Endocrine 2002; 19: 43-55.
146. Campbell FM, Gordon MJ, Dutta-Roy AK. Plasma membrane fatty acid binding protein from human placenta: Identification and characterization. Biochem Biophys Res Commun 2000; 209: 1011-1017.
147. Haggarty P, Page K, Abramovich DR, Ashton J, Brown D. Long-chain polyunsaturated fatty acid transport across the perfused human placenta. Placenta 1997; 18: 635-642.
148. Ortega RM, Gaspar MJ, Cantero M. Influence of maternal serum lipids and maternal diet during the third trimester of pregnancy on umbilical cord blood lipids in two populations of Spanish newborns. J Vitam Nutr Res 1996; 66: 250-257.
149. Neary RH, Kilby MD, Kumpatula P, Game FL, Bhatnagar D, Durrington PN, O'Brien PMS. Fetal and maternal lipoprotein metabolism in human pregnancy. Clin Sci 1995; 88: 311-318.
150. Napoli C, D'Armiento FP, Mancini FP, Postiglione A, Witztum JL, Palumbo G, Palinski W. Fatty streak formation occurs in human fetal aortas and is greatly enhanced by maternal hypercholesterolemia – intimal accumulation of low density lipoprotein and its oxidation

precede monocyte recruitment into early atherosclerotic lesions. J Clin Invest 1997; 100: 2680-2690.
151. Xu Y, Cook TJ, Knipp GT. Methods for investigating placental fatty acid transport. Methods Mol Med 2006; 122: 265-84.
152. Thomas CR. Placental transfer of non-esterified fatty acids in normal and diabetic pregnancy. Biol Neonate 1987; 51: 94-101.
153. Knopp RH, Warth MR, Charles D, Childs M, Li JR, Mabuchi H, Van Allen MI. Lipoprotein metabolism in pregnancy, fat transport to the fetus and the effects of diabetes. Biol Neonate 1986; 50: 297-317.
154. Dražančić A, Baršić E, Gorečan V, Mrljak-Pešut R. Dijabetes i trudnoća. Jug ginek i opstet 1969; 3: 11-27.
155. De Hertogh R, Leunda-Casi A, Hinck L. Pre-implatation embryopathy and maternal diabetes; in Hod M, Jovanovic L, Di Renzo JC, de Leiva A, Langer O (eds): Textbook of Diabetes and Pregnancy. London, Martin Dunitz, 2003, pp 240-252.
156. Merzouk H, Madani S, Korso N, Bouchenak M, Prost J, Belleville J. Maternal and fetal serum lipid and lipoprotein concentrations and compositions in type 1 diabetic pregnancy: relationship with maternal glycemic control. J Lab Clin Med 2000; 136(6): 441-8.
157. Knipp GT, Audus KL, Soares MJ. Nutritient transport across the placenta. Advanced Drug Delivery Reviews 1999; 38: 41-58.
158. Crawford MA, Doyle W, Leaf A, Leighfield M, Ghebremeskei K, Phylactos A. Nutrition and neurodevelopmental disorders. Nutr Health 1993; 9: 91-97.
159. Nettleton JA. Are n-3 fatty acids essential nutrients for fetal and infant development? J Am Diet Assoc 1993; 93: 58-64.
160. Robillard PY, Christon R. Lipid intake during pregnancy in developing countries: possible effect of essential fatty acid deficiency on fetal growth. Prostaglandins Leukot Essent Fatty Acids 1993; 48: 139-142.
161. Viscardi RM. Role of fatty acids in lung development. J Nutr 1995; 125: 1645S-1651S.
162. Jumpsen J, Clandinin MT. Brain development: Relationship To Dietary Lipid Metabolism. AOCS Press, Champaign, IL, 1995.
163. Barker DJP, Winter PD, Osmond C, Margetts B, Simmonds SJ. Weight in infancy and death from ischaemic heart disease. Lancet 1989; 2: 577-580.
164. Barker DJP, Bull AR, Osmond C, Simmonds SJ. Fetal and placental size and risk of hypertension in adult life. Br Med J 1990; 301: 259-262.
165. Barker DJP, Gluckman PD, Godfrey KM, Harding JE, Owens JA, Robinson JS. Fetal nutrition and cardiovascular disease in adult life. Lancet 1993; 341: 938-941.
166. Hornstra G, Al MDM, Houwelingen ACV, Foreman-van Drongelen MMHP. Essential fatty acids in pregnancy and early human development. Eur J Obstet Gynecol 1995; 61: 57-62.

167. Kuhn DC, Crawford M. Placental fatty acid transport and prostaglandin synthesis. Prog Lipid Res 1986; 25: 345-353.
168. Green P, Yavin E. Fatty acid composition and early postnatal rat brain. Lipids 1996; 31: 859-865.
169. Kalkhoff RK. Impact of maternal fuels and nutritional state on fetal growth. Diabetes 1991; 40: 61-65.
170. Wolf H, Stave U, Novak M, Monkus EF. Recent investigations on neonatal fat metabolism. J Perinat Med 1974; 2: 75-87.
171. Warshaw JB, Terry ML. Cellular energy metabolism during fetal development. VI Fatty acid oxidation by developing brain. Dev Biol 1976; 52: 161-166.
172. Uauy R, Treen M, Hoffman DR. Essential fatty acid metabolism and requirements during development. Semin Perinatol 1989; 13: 118-130.
173. Coleman RA. The role of the placenta in lipid metabolism and transport. Semin Perinatol 1989; 13: 180-191.
174. Coleman RA. Placental metabolism and transport of lipid. Fed Proc 1986; 45: 2519-2523.
175. Hui TY, Bernlohr DA. Fatty acid transporters in animal cells. Front Biosci 1997; 2: d222-d231.
176. Campbell FM, Bush PG, Veerkamp JH, Dutta-Roy AK. Detection and localisation of plasma membrane-associated and cytoplasmic fatty acid-binding proteins in human placenta. Placenta 1998; 19: 409-415.
177. Campbell FM, Clohessy AM, Gordon MJ, Page KR, Dutta-Roy AK. Uptake of long chain fatty acids by human placental carcinoma (BeWo) cells: role of plasma membrane fatty acid-binding protein. J Lipid Res 1997; 38: 2558-2568.
178. Calles-Escandon J, Sweet L, Ljugqvist O, Hirschman MF,. The membrane-associated 40 kDa fatty acid binding protein (Berk's protein), a putative fatty acid transporter is present in human skeletal muscle. Life Sci 1996; 58: 19-28.
179. Campbell FM, Gordon MJ, Dutta-Roy AK. Plasma membrane fatty acid-binding protein ($FABP_{pm}$) of the sheep placenta. Biochem Biophys Acta 1994; 1214: 187-192.
180. Campbell FM, Taffese S, Gordon MJ, Dutta-Roy AK. Plasma membrane fatty acid-binding protein in human placenta: identification and characterisation. Biochem Biophys Res Commun 1994; 209: 1011-1017.
181. Campbell FM, Dutta-Roy AK. Plasma membrane fatty acid-binding protein ($FABP_{pm}$) is exclusively located in the maternal facing membranes of the human placenta. FEBS Lett 1995; 375: 227-230.
182. Campbell FM, Gordon MJ, Dutta-Roy AK. Preferential uptake of long chain polyunsaturated fatty acids by isolated human placental membranes. Mol Cell Biochem 1996; 155: 77-83.
183. Isola LM, Zhou SL, Kiang CL, Stump DD, Bradbury MW, Berk PD. 3T3 Fibroblasts transfected with a cDNA for mitochondrial aspartate aminotransferase express plasma membrane fatty acid-binding protein

and saturable fatty acid uptake. Proc Natl Acad Sci USA 1995; 92: 9866-9870.
184. Campbell FM, Clohessy AM, Gordon MJ, Page KR, Dutta-Roy AK. Placental membrane fatty acid-binding protein preferentially binds arachidonic and decosahexaenoic acid. Life Sci 1998; 63: 235-240.
185. Abumrad NA, El-Maghrabi MR, Amri EZ, Lopez E, Grimaldi PA. Cloning of a rat adipocyte membrane protein implicated in binding or transport of long-chain fatty acids that is induced during preadipocyte differentiation homology with human CD36. J Biol Chem 1993; 268: 17665-17668.
186. Endemann G, Stanton LW, Madden KS, Bryant CM, White RT, Protter AA. CD36 is a receptor for oxidized low density lipoprotein. J Biol Chem 1993; 268: 11811-11816.
187. Ottnad E, Parthasarathy S, Sambrano GR, Ramprasad MP, Quehenberger O, Kondratenko N, Green S, Steinberg D. A macrophage receptor for oxidized low density lipoprotein distinct from the receptor for acetyl low density lipoprotein: partial purification and role in recognition of oxidatively damaged cells. Proc Natl Acad Sci USA 1995; 92: 1391-1395.
188. Yoshida H, Quehenberger O, Kondratenko N, Green S, Steinberg D. Minimally oxidized low-density lipoprotein increases expression of scavenger receptor A, CD36 and macrosialin in resident mouse peritoneal macrophages. Arterioscler Thromb Vasc Biol 1998; 18: 794-802.
189. Man MZ, Hui TY, Schaeffer JE, Lodish HF, Bernlohr DA. Regulation of the murine adipocyte fatty acid transporter gene by insulin. Mol Endocrinol 1996; 10: 1021-1028.
190. Glatz JFC, Vork MM, Cistola DP, van der Vusse GJ. Cytoplasmic intestinal fatty acid binding protein: significance for intracellular transport of fatty acids and putative role on signal transduction pathways. Prostaglandins Leukot Essent Fatty Acids 1993; 48: 33-41.
191. Bass NM. The cellular intestinal fatty acid binding proteins: aspects of structure, regulation, and function. Int Rev Cytol 1988; 111: 143-184.
192. Magnusson AL, Waterman IJ, Wennergren M, Jansson T, Powell TL. Triglyceride hydrolase activities and expression of fatty acid binding protein in the human placenta in pregnancies complicated by intrauterine growth restriction and diabetes. J Clin Endocrinol Metab 2004; 89(9): 4607-14.
193. Waterman IJ, Emmison N, Sattar N, Dutta-Roy AK. Further characterization of a novel triacylglycerol hydrolase activity (pH 6.0 optimum) from microvillous membranes from human term placenta. Placenta 2000; 21: 813–823.
194. Innis S. Essential fatty acids in growth and development. Prog Lipid Res 1986; 30: 39–103.

195. Crawford M, Hassam A, Stevens P. Essential fatty acid requirements in pregnancy and lactation with special reference to brain development. Prog Lipid Res 1981; 20: 30–40.
196. Neuringer M, Connor WE, Lin DS, Barstad L, Luck S. Biochemical and functional effects of prenatal and postnatal omega-3 fatty acid deficiency on retina and brain in rhesus monkeys. Proc Natl Acad Sci USA 1986; 83:4021–4025.
197. Das T, Sa G, Mukherjea M. Characterization of cardiac fatty-acid-binding protein from human placenta. Comparison with placenta hepatic types. Eur J Biochem 1993: 211: 725–730.
198. Dutta-Roy AK. Fatty acid transport and metabolism in the feto-placental unit and the role of fatty acid-binding protein. J Nutr Biochem 1997; 8: 548–557.
199. Montelongo A, Lasuncion MA, Pallardo LF, Herrera E. Longitudinal study of plasma lipoproteins and hormones during pregnancy in normal and diabetic women. Diabetes 1992; 41: 1651–1659.
200. Hollingsworth DR, Grundy SM. Pregnancy-associated hypertriglyceridemia in normal and diabetic women. Differences in insulin-dependent, non-insulin-dependent, and gestational diabetes. Diabetes 1982; 31: 1092–1097.
201. Banerjee S, Ghosh US, Banerjee D. Effect of tight glycaemic control on fetal complications in diabetic pregnancies. J Assoc Physicians India 2004; 52: 109-13.
202. Lindegaard ML, Damm P, Mathiesen ER, Nielsen LB. Placental triglyceride accumulation in maternal type 1 diabetes is associated with increased lipase gene expression. J Lipid Res 2006; 47(11): 2581-8.
203. Desoye G, Shafrir E. Placental metabolism and its regulation in health and diabetes. Mol Aspects Med 1994; 15: 505–682.
204. Knopp R, Bergelin R, Wahl P, Walden C. Relationships of infant birth size to maternal lipoproteins, apoproteins, fuels, hormones, clinical chemistries and body weight at 36 weeks' gestation. Diabetes 1985; 34(Suppl 2): 71–72.
205. Cristie WW. Lipid analysis. 2nd ed. Pergamon Press, 1982.
206. Johnson AR, Davenport JB. Biochemistry and methodology of lipids. Wiley, 1971.
207. Gunstone FD, Harwood JL, Padley FB. The lipid handbook. Chapman & Hall, 1986.
208. Frankel EN. Chemistry of free radical and singlet oxidation of lipids. Prog Lipid Res 1985; 23: 197.
209. Vance DE, Vance JE. Biochemistry of lipids and membranes. Benjamin/Cummings, 1985.
210. Mitchell MD. Current topic: the regulation of placental eicosanoid biosynthesis. Placenta 1991; 12: 557.
211. Farooque S, Lee TH. Aspirin sensitivity and eicosanoids. Thorax. 2008; 63(1): 2-4.

212. Randle P, Garland JPB, Hales CN, et al. The glucose-fatty acid cycle: its role in insulin sensitivity and the metabolic disturbances of diabetes mellitus. Lancet 1963; 1:785.
213. Yandek LE, Pokorny A, Almeida PF. Small changes in the primary structure of transportan 10 alter the thermodynamics and kinetics of its interaction with phospholipid vesicles. Biochemistry 2008; 47(9): 3051-60.
214. Kimura RE. Fatty acid metabolism. Seminars in Perinatology 1989; 3(13), pp 202-211.
215. Zierler L, Rabinowitz D. Effects of very small concentrations of insulin on forearm metabolism: peristence of its action on potassium and free fatty acids without its effect on glucose. J Clin Invest 1964; 43:950.
216. Rothman DL, Magnusson I, Katz LD, Shulman RG, Shulman GI. Quantitation of hepatic glycogenolysis and gluconeogenesis in fasting humans with 13C NMR. Science 1991; 254:573.
217. Pozefsky T, Tancredi RG, Moxley RT, Dupre J, Tobin JD. Effects of brief starvation on muscle amino acid metabolism in nonobese man. J Clin Invest 1976; 57:444.
218. Felig P. Amino acid metabolism in man. Annu Rev Biochem 1975; 44:933.
219. Cahill GH Jr, Herrera MG, Morgan AP, et al. Hormone-fuel interrelationships during fasting. J Clin Invest 1966; 45:1751.
220. Fisher M, Sherwin RS, Hendler R, Felig P. Kinetics of glucagon in man: effects of starvation. Proc Natl Acad Sci USA 1976; 73:1734.
221. McGarry JD, Wright P, Foster D. Hormonal control of ketogenesis: rapid activation of hepatic ketogenic capacity in fed rats by anti-insulin serum and glucagon. J Clin Invest 1975;55:1202.
222. Esther Vice, Jonathan D. Privette, Robert C. Hickner and Hisham A. Barakat. Ketone body metabolism in lean and obese women. Metabolism 2005; 54(11), pp1542-1545.
223. Sherwin RS, Shulman GI, Hendler R, et al. Effect of growth hormone on oral glucose tolerance and circulating metabolic fuels in man. Diabetologia 1983; 24:155.
224. Aschenbach WG, Hirshman MF, Fujii N, Sakamoto K, Howlett KF, Goodyear LJ. Effect of AICAR treatment on glycogen metabolism in skeletal muscle. Diabetes. 2002; 51(3):567-73.
225. Ahlborg G, Felig P, Hagenfeldt L, Hendler R, Wahren J. Substrate turnover during prolonged exercice in man. J Clin Invest 1974; 53:1080.
226. Goodyear LJ. AMP-activated protein kinase: a critical signaling intermediary for exercise-stimulated glucose transport? Exerc Sport Sci Rev 2000; 28:113.
227. Rizza R, Mandarino L, Gerich J. Dose-response characteristics for effects of insulin on production and utilisation of glucose in man. A. J Physiol 1981; 240:1630.
228. Steele R. Influence of glucose loading and/or injected insulin on hepatic glucose output. Ann NY Acad Sci 1959; 82:420.

229. Tillil H, Shapiro ET, Miller MA, Karrison T, Frank BH, Galloway JA, Rubenstein AH, Polonsky KS. Dose-dependent effects of oral and intravenous glucose on isulin secretion and clearance in normal humans. Am J Physiol 1988; 254: 349.
230. Rasmussen H, Zawalich KC, Ganesan S, Calle R, Zawalich WS. Physiology and patophysiology of insulin secretion. Diabetes Care 1990; 13:655.
231. Katz LK, Glickman MG, Rapoport S, et al. Splanchnic and peripheral disposal of oral glucose in man. Diabetes 1983; 32:675.
232. Damholt MB, Arlien-Soeborg P, Hilsted L, Hilsted J. Is pancreatic polypeptide response to food ingestion a reliable index of vagal function in type 1 diabetes? Scand J Clin Lab Invest 2006; 66(4):279-86.
233. Nuttall FQ, Schweim KJ, Gannon MC. Effect of orally administered phenylalanine with and without glucose on insulin, glucagon and glucose concentrations. Horm Metab Res 2006; 38(8):518-23.
234. Nicolaidis S. Metabolic mechanism of wakefulness (and hunger) and sleep (and satiety): Role of adenosine triphosphate and hypocretin and other peptides. Metabolism 2006; 55(10 Suppl 2):S24-9.
235. Hartman JW, Moore DR, Phillips SM. Resistance training reduces whole-body protein turnover and improves net protein retention in untrained young males. Appl Physiol Nutr Metab. 2006; 31(5):557-564.
236. Sadur CN, Eckel RH. Insulin stimulation of adipose tissue lipoprotein lipase: use of the euglycemic clamp technique. J Clin Invest 1982; 69:1119.
237. Robinson J, Newsholme EA. Glycerol kinase activities in rat heart and adipose tissue. Biochem J 1967; 104:2C.
238. Yki-Jarvinen H. Sex and insulin sensitivity. Metabolism 1985; 33:1011.
239. Arslanian SA, Heil BV, Becker DJ, Drash AL. Sexual dimorphism in insulin sensitivity in adolescents with insulin-dependent diabetes mellitus. J Clin Endocrinol Metab 1991; 72:920.
240. Haymond MW, Kan IE, Clarke WL, et al. Differences in circulating gluconeogenic substrates during short-term fasting in men, women, and children. Metabolism 1982; 31:33.
241. Diamond MP, Jones T, Caprio S, Hallarman L, Diamond MC, Addabbo M, Tamborlane WV, Sherwin R. Gender influences counterregulatory hormone responses to hypoglycemia. Metabolism 1993; 42:1568.
242. Amiel SA, Maran A, MacDonald IA. Sex differences in counterregulatory hormone responses but not glucose kinetics during insulin induced hypoglycemia. Diabetes 1991; 40(Suppl 1):2221.
243. Valdes CT, Elkind-Hirsch KE. Intravenous glucose tolerance test insulin sensitivity changes derived during the menstrual cycle. J Clin Endocrinol Metab 1991; 72:642.

244. Diamond MP, Jacob RJ, Connolly-Diamond M, et al. Glucose metabolism during the menstrual cycle: assessment by the euglycemic, hyperinsulinemic clamp technique. J Reprod Med 1993; 38:417.
245. Diamond MP, Grainger DA, Rossi G, Connolly-Diamond M, Sherwin RS. Counter-regulatory response tohypoglycemia in the follicular and luteal phases of the menstrual cycle. Fertil Steril 1993; 60:988.
246. Đelmiš J.: Gestacijski dijabetes. u: Đelmiš J. i suradnici. Dijabetes u trudnoći. Zagreb: Medias d.o.o., 2002, 161-170.
247. Peters RK, Kjos SL, Xiang A, Buchanan TA. Long-term diabetogenic effect of single pregnancy in women with previous gestational diabetes mellitus. Lancet 1996; 347:227-30.
248. Jones J.N., Gercel Taylor C., Taylor D.D. Altered cord serum lipid levels associated with small for gestation age infants. Obstet Gynecol. 1999; 93(4):527-31.
249. Đelmiš J. Early embrionic growth delay in IDDM pregnancies. 28th Annual Meeting of Diabetic Pregnancy Study Group Aberdeen Great Britain, 1997, Abstract.
250. Starčević V, Đelmiš J, Ivanišević M, Mayer D. The effect of glycemia on early embrionic development in diabetic pregnancies. Prenat Neonat Med 2001; 6:208-13.
251. Shima K, Tanaka R, Morishita S, Tauri S, Kumahara Y. Studies on the etiology of „brittle“ diabetes: relationship between diabetic instability and insulinogenic reserve. Diabetes 1977; 26:717.
252. Coulston GLA, Chen Y-DI, Reaven GM. Does day-long absolute hypoinsulinemia characterize the patient with non-insulin-dependent diabetes mellitus. Metabolism 1983; 32:754.
253. Yalow RS, Berson SA. Immunoassay of endogenous plasma insulin in man. J Clin Invest 1960; 39:1157.
254. Lockwood DH, Amatruda TM. Cellular alterations responsible for insulin resistance in obesity and type II diabetes mellitus. Am J Med 1983; 75:23.
255. Shulman GI. Cellular mechanisms of insulin resistance. J Clin Invest 2000; 106:171.
256. Petersen KF, Hendler R, Price T, Perseghin G, Rothman DL, Amatruda JM, Shulman GI. 13C/31P NMR studies on the mechanism of insulin resistance in obesity. Diabetes 1998; 47:381.
257. Expert Committee on the Diagnosis and Classification of Diabetes Mellitus. Report of the expert committee on the diagnosis and clasification of diabetes mellitus. Diabetes Care 2002; 25(Suppl 1):5.
258. Press M, Tamborlane WV, Sherwin RS. Importance of raised growth hormone levels in mediating the metabolic derangements of diabetes. N Engl J Med 1984; 310:810.
259. American Diabetes Association. Diabetes mellitus and exercise: position statement. Diabetes Care 2000; 23(Suppl 1):50.

260. Wahren J, Felig P, Cerase E, Luft R. Splanchnic and peripheral glucose and amino acid metabolism in diabetes mellitus. J Clin Invest 1972; 51:1870.
261. Nikou D, Philippidis H, Palaiologos G. Serum alanine concentration in diabetic children under insulin treatment. Horm Metab Res 1975; 7:207.
262. Fukagawa NK, Minaker KL, Rowe JW, Goodman MN, Matthews DE, Bier DM, Young VR. Insulin-mediated reduction of whole body total protein breakdown. Dose response effects on leucine metabolism in postaborptive man. J Cin Invest 1985; 76:2306.
263. Greenfield M, Kolterman O, Olefsky J, Reaven GM. Mechanism of hypertriglyceridemia in diabetic patients with fasting hyperglycemia. Diabetologia 1980; 18:441.
264. Ferrannini E, Barrett EJ, Bevilacqua S, DeFronzo RA. Effect of fatty acids on glucose production and utilization in man. J Clin Invest 1983; 72:1737.
265. Tobey TA, Greenfield M, Kraemer F, Reaven GM. Relationship between insulin resistance, insulin secretion, very low density lipoprotein kinetics, and plasma triglyceride levels in normotriglyceridemic man. Metabolism 1981; 30:165.
266. Crowther CA, Hiller JE, Moss JR, McPhee AJ, Jeffries WS, Robinson JS; Australian Carbohydrate Intolerance Study in Pregnant Women (ACHOIS) Trial Group. Effect of treatment of gestational diabetes mellitus on pregnancy outcomes. N Engl J Med 2005 16; 352(24):2477-86.
267. Diabetes Control and Complications Trial (DCCT) Research Group. Hypoglycemia in the Diabetes Control and Complications Trial. Diabetes 1997; 46:271.
268. Atkinson MA, MacLaren NK. The pathogenesis of insulin-dependent diabetes mellitus. N Engl J Med 331: 1428-36, 1994.
269. Warram JH, Krolewski AS, Kahn CR. Determinants of IDDM and perinatal mortality in children of diabetic mothers. Diabetes 37: 1328-34, 1988.
270. Karlsson K, Kjellmer I. The outcome of diabetic pregnancies in relation to the mother´s blood sugar level. Am J Obstet Gynecol 112: 213, 1972.
271. Persson B, Swahn ML, Hjertberg R, Hanson U, Nord E, Nordlander E, Hansson LO. Insulin lispro therapy in pregnancies complicated by type 1 diabetes mellitus. Diabetes Res Clin Pract 2002; 58(2): 115-21.
272. Diamant YZ, Metzger BE, Freinkel N, Shafir E: Placental lipid and glycogen content in human and experimental diabetes mellitus. Am J Obstet Gynecol 144: 5-11, 1982.
273. Bitsanis D, Ghebremeskel K, Moodley T, Crawford MA, Djahanbakhch O. Gestational diabetes mellitus enhances arachidonic and docosahexaenoic acids in placental phospholipids. Lipids 2006; 41(4): 341-6.

274. Alonso A, Del Rey CG, Navarro A, Tolivia J, Gonzáles CG. Effects of gestational diabetes mellitus on proteins implicated in insulin signaling in human placenta. Gynecol Endocrinol. 2006; 22(9): 526-35.
275. Ryan EA, Enns L. Role of gestational hormones in the induction of insulin resistance. J Clin Endocrinol Metab 67: 341, 1988.
276. Rathod KB, Jaiswal KN, Shirvastava AC, Shirkhande AV. Study of placenta in sickle cell disorders. Indian J Pathol Microbiol. 2007; 50(4): 698-701.
277. LeMura LM, von Duvillard SP, Andreacci J, Klebez JM, Chelland SA, Russo J. Lipid and lipoprotein profiles, cardiovascular fitness, body composition, and diet during and after resistance, aerobic and combination training in young women. Eur J Appl Physiol 2000; 82(5-6)): 451-8.
278. Desoye G. Transport across the human placenta. Acta med Croat 55(suppl. 1); 30-34, 2001.
279. Korteweg FJ, Gordijn SJ, Timmer A, Holm JP, Ravisé JM, Erwich JJ. A placental cause of intra-uterine fetal death depends on the perinatal mortality classification system used. Placenta 2008; 29(1): 71-80.
280. Ogino S, Redline RW. Villous capillary lesions of the placenta: distinction between chorangioma, chorangiomatosis and chorangiosis. Hum Pathol 31: 945-954, 2000.
281. Soma H, Watanabe Y, Hata T. Chorangiosis and chorangioma in three cohorts of placentas from Nepal, Tibet and Japan. Reprod Fertil Dev 7: 1533-1538, 1995.
282. Redline RW. Disorders of the placental parenchyma. U: Pathology of the placenta, 2. izd. Lewis SH, Perrin E, ur. New York: Churchill Livingstone, 161-184, 1999.
283. Ogbourn PL, Brenner WE: Possible role of arachidonic acid in labor. In: Ogbourn PL, Brenner WE (eds): The physiologic actions and effects of prostaglandins. Current concepts, Upjohn 15, 1981.
284. Challis JRG, Patel FA, Pomini F: Prostaglandin dehydrogenase and the initiation of labor. J Perinat Med 27:26, 1999.
285. Robinson H, Fleming J. A critical evaluation of sonar crown rump lenght measurements. BR J Obstet and Gynecol 1975; 82: 702-705.
286. Trinder P. Determination of blood glucose using 4-amino phenazone as oxygen acceptor. J Clin Pathol. 1969; 22(2): 246.
287. Folch J, Lees M, Sloane-Stanley GH. A simple method for the isolation and purification of total lipids from animal tissues. J Biol Chem 1957; 226(1): 497-509.
288. Geiss F. Fundamentals of Thin Layer Chromatography. Huethig, Mamaroucek, N.Y. 1987.
289. Heftmann E. Chromatography, Part A: Fundamentals and Techniques. Journal of Chromatography Library, Vol. 51A, Elsevier, Amsterdam 1992.
290. Skoog DA, Holler FJ, Nieman TA. Principles of Instrumental Analysis, 5th ed. Hacourt Brace College Publishers, Philadelphia 1998.

291. Shanta NC, Napolitano GE. Gas chromatography of fatty acids. J Chromatogr 1992; 624: 37-51.
292. Cristie WW. Preparation of Ester Derivatives of Fatty Acids for Chromatographic Analysis. In: Advances in Lipid Methodology-Two, edited by Cristie WW. Dundee, Oily Press, 1993, pp 69-111.
293. Haas MJ, Scott KM, Foglia TA, Marmer WN. The general applicability of in situ transesterification for the production of fatty acid esters from a variety of feedstocks. Journal of the American Oil Chemists' Society 2007; 84(10): 963-970.
294. Waterman IJ, Emmision N, Sattar N, Dutta-Roy AK. Further characterisation of a novel triacylglycerol hydrolase activity (pH 6.0 optimum) from microvillous membrane from human term placenta. Placenta 2000; 21: 813-823.
295. Klingler M, Demmelmair H, Larque E, Koletzko B. Analysis of FA contents in individual lipid fraction from human placental tisue. Lipids 2003; 38(5): 561-6.
296. Koletzko B, Agostoni C, Carlson CE, Clandinin T, Hornstra G, Neuringer M, Uauy R, Yamashiro Y, Willatts P. Long-chain polyunsaturated fatty acids (LC-PUFA) and perinatal development. Acta Paediatr 2001; 90: 460-464.
297. Haggarty P, Page K, Abramovich D, Ashton J, Brown D. Long-chain polyunsaturated fatty acid transport across the perfused human placenta. Placenta 1997; 18: 635-642.
298. Haggarty P. Placental regulation of fatty acid delivery and its effect on fetal growth-a review. Placenta 2002; 23 (Suppl. A): S28-S38.
299. Campbell FM, Gordon MJ, Dutta-Roy AK. Placental membrane fatty acid-binding protein preferentially binds arachidonic and docosahexaenoic acids. Life Sci 1998; 63: 235-240.
300. Dutta-Roy AK. Transport mechanisms for long-chain polyunsaturated fatty acids in the human placenta. Am J Clin Nutr 2000; 71 (Suppl.): 315S-322S.
301. Hagan RM, Worner-Gibbs J, Wilton DC. The interaction of liver fatty-acid-binding protein (FABP) with anionic phospholipid vesicles: is there extended phospholipid anchorage under these conditions? Biochem J 2008; 410(1): 123-9.
302. Bligh EG, Dyer WJ. A rapid method of total lipid extraction and purification. Can J Biochem Physiol 1959; 37: 911-917.
303. Lees MB, Folch J. A micro method for the estimation of total sulfur in biological materials. Biochim Biophys Acta 1959; 31(1): 272-4.
304. Bannon CD, Breen GJ, Craske JD, Hai NT, Harper NL, O'Rourke KL. Analysis of fatty acid methyl ester with high accuracy and reliability. J Chromatogr 1982; 247: 71-89.
305. Härtig C. Rapid identification of fatty acid methyl esters using a multidimensional gas chromatography-mass spectrometry database. J Chromatogr A 2008; 1177(1): 159-69.

306. Ackman RG, Ratnayake WMN. Properties of Fats, Oils and Lipids: Recovery and Basic Compositional Studies with Gas-Liquid Chromatography and Thin-Layer Chromatography. In: The Role of Fats in Human Nutrition, edited by Vergroesen AJ, Crawford M, London, Academic Press, 1989, pp 441-514.
307. Rhoderick GC. Differences between propane in nitrogen versus air matrix analyzed using gas chromatography with flame-ionization detection. J Chromatogr A 2008; 1187(1-2): 226-31.
308. Innis SM, Friesen RW. Essential n-3 fatty acids in pregnant women and early visual acuity maturation in term infants. Am J Clin Nutr 2008; 87(3): 548-57.
309. Matorras R, Lopez de Larrucea A, Sanjurjo P, Ruiz JI, Echevarria Y, Nieto A, Pertegudo L, Aldamiz-Echevarria JL. Increased tissue concentrations of arachidonic acid in umbilical artery and placenta in fetal growth retardation. Acta Obstet Gynecol Scand 2001; 80: 807-812.
310. Brooks SPJ, Ratnayake WMN, Lampi BJ, Hollywood R. Measuring total lipids content in rat carcasses: A Comparison of Commonly Employed Extraction Methods. J Agric Food Chem 1998; 46: 4214-4217.
311. VERA-Schriftenreihe. Lebensmittel – und Nährstoffaufnahme in der BRD (1985-1989), Niederkleen, Wissenschaftlicher Verlag, 1994.
312. Aranceta J. Spanish food patterns. Public Health Nutr 2001; 4: 1399-1402.
313. Ramirez-Tortosa C, Lopez-Pedrosa JM, Suarez A, Ros E, Mataix J, Gil A. Olive oil and fish oil enriched diets modify plasma lipids and susceptibility of LDL to oxidative modification in free living male patients with peropheral vascular disease: The Spanish Nutrition Study. Br J Nutr 1999; 82: 31-39.
314. Bizzozero N, Ghiringhelli L, Pistis A, Sprocati G. Composizione trigliceridica e acidica di campioni commerciali di olio d'oliva. Industrie Alimentari 1998; 37: 187-190.
315. Škarica B, Žužić I, Bonifačić M. Maslina i maslinovo ulje visoke kakvoće u Hrvatskoj. Rijeka, Tipograf, 1996.
316. Sánchez-Ortiz A, Pérez AG, Sanz C. Cultivar differences on nonesterified polyunsaturated fatty acid as a limiting factor for the biogenesis of virgin olive oil aroma. J Agric Food Chem. 2007; 55(19): 7869-73.
317. Fedeli E. Aceite de oliva, tecnologia y calidad. Seminario internacional sobre innovaciones cientificas y su aplicacion en la olivicultura y la elaiotecnia, 1999.
318. Pérez-Jiménez F, Ruano J, Perez-Martinez P, Lopez-Segura F, Lopez-Miranda J. The influence of olive oil on human health: not a question of fat alone. Mol Nutr Food Res 2007; 51(10): 1199-208.
319. Jones PJ, Demonty I, Chan YM, Herzog Y, Pelled D. Fish-oil esters of plant sterols differ from vegetable-oil sterol esters in triglycerides lowering, carotenoid bioavailability and impact on plasminogen

activator inhibitor-1 (PAI-1) concentrations in hypercholesterolemic subjects. Lipids Health Dis 2007; 25; 6:28.
320. COI – Consiglio oleicolo internazionale. Olio d'oliva: qualita di vita. Madrid, 2000.
321. Simopoulos AP. The Mediterranean diets: What is so special about the diet of Greece? The scientific evidence. J Nutr 2001; 131(11 Suppl): 3065S-73S.
322. Visioli F, Galli C. Oleuropein protects low density lipoprotein from oxidation. Life Sciences 1994; 55: 1965-1971.
323. Carluccio MA, Massaro M, Scoditti E, De Caterina R. Vasculoprotective potential of olive oil components. Mol Nutr Food Res 2007; 51(10): 1225-34.
324. Lagerstedt SA, Hinrichs DR, Batt SM, Magera MJ, Rinaldo P, McConnel JP. Quantitative determination of plasma C_8-C_{26} total fatty acids for the biochemical diagnosis of nutritional and metabolic disorders. Mol Genet Metab 2001; 73: 38-45.
325. Shina R, Yates SL, Ghassemi A, Rosenberg P, Condrea E. Inhibitory effects of EDTA Ca^{2+} on the hydrolysis of synaptosomal phospholipids by phospholipase A_2 toxins and enzymes. Biochem Pharmacol 1990; 40: 2233-2239.
326. Berghaus TM, Demmelmair H, Koletzko B. Essential fatty acids and their long-chain polyunsaturated metabolites in maternal and cord plasma triglycerides during late gestation. Biol Neonat 2000; 77: 96-100.
327. Koletzko B. Importance of dietary lipids. In: Tsang R, Zlotkin S, Nichols B, Hansen J (eds): Nutrition During Infancy: Birth to 2 Years. Cincinnati, Observatory Group, 1997.
328. Clanidin MT, Chappel JE, Heim T, Swyer PR, Chance GW. Fatty acid utilisation in perinatal de novo synthesis of tissue. Early Hum Dev 1985; 5: 355-366.
329. King KC, Adam PAJ, Laskowski DE, Schwartz R. Sources of fatty acids in the newborn. Pediatrics 1971; 47: 192-198.
330. Farquharson J, Cockburn F, Patrick WA, Jamieson EC, Logan RW. Infant cerebral cortex phospholipid fatty-acid composition and diet. Lancet 1992; 340: 810-813.
331. Martinez M. Tissue levels of polyunsaturated fatty acids during early human development. J Pediatr 1992; 120: 129-138.
332. Agostoni C, Trojan S, Bellù R, Riva E, Giovanini M. Neurodevelopmental quotient of healthy term infants at 4 months and feeding practice: The role of long-chain polyunsaturated fatty acids. Pediatr Res 1995; 38: 262-266.
333. Harvey KA, Arnold T, Rasool T, Antalis C, Miller SJ, Siddiqui RA. Trans-fatty acids induce pro-inflammatory responses and endothelial cell dysfunction. Br J Nutr 2008; 99(4): 723-31.

334. Koletzko B, Müller J. Cis- and trans-isomeric fatty acids in plasma lipids of newborn infants and their mothers. Biol Neonate 1990; 57: 172-178.
335. Olegard R, Svennerholm L. Fatty acid composition of plasma and red cell phosphoglycerides in full term infants and their mothers. Acta Paediatr Scand 1970; 59: 637-647.
336. Chambaz J, Ravel D, Manier MC, Pepin D, Mulliez N, Bereziat G. Essential fatty acids interconversion in the human fetal liver. Biol Neonate 1985; 47: 136-140.
337. Berghaus TM, Demmelmair H, Koletzko B. Fatty acid composition of lipid classes in maternal and cord plasma at birth. Eur J Pediatr 1998; 157: 763-768.
338. Dancis J, Jansen V, Kayden HJ, Schneider H, Levitz M. Transfer across perfused human placenta. II. Free fatty acids. Pediatr Res 1973; 7: 192-197.
339. Kuhn DC, Crawford MA, Stevens P. Transport and metabolism of essential fatty acids by the human placenta. Contrib Gynec Obstet 1985; 13: 139-140.
340. Friedman Z, Danon A, Lamberth EL, Mann WJ. Cord blood fatty acid composition in infants and in their mothers during the third trimester. J Pediatr 1978; 92: 461-466.
341. Fosbrooke AS, Wharton BA. Plasma lipids in umbilical cord blood from infants of normal and low birth weight. Biol Neonate 1973; 23: 330-338.
342. Hoving EB, vanBeusekom CM, Nijeboer HJ, Muskiet FAJ. Gestetional age dependency of essential fatty acids in cord plasma cholesterol esters and triglycerides. Pediatr Res 1994; 35: 461-469.
343. Roux JF. Lipid metabolism in the fetal and neonatal rabbit. Metabolism 1966; 15: 856-864.
344. Carnielli VP, Simonato M, Verlato G, Luijendijk I, De Curtis M, Sauer PJ, Cogo PE. Synthesis of long-chain polyunsaturated fatty acids in preterm newborns fed formula with long-chain polyunsaturated fatty acids. Am J Clin Nutr 2007; 86(5): 1323-30.
345. Portman OW, Behrman RE, Soltys P. Transfer of free fatty acids across the primate placenta. Am J Physiol 1969; 226: 143-147.
346. Christensen NC. Free fatty acids, glycerol and triglycerides during the first 24 hours in infants with a birth weight ≤2700 gramms. Acta Paediatr Scand 1981; 70: 485-490.
347. Karupaiah T, Sundram K. Effects of stereospecific positioning of fatty acids in triacylglycerol structures in native and randomized fats: a review of their nutritional implications. Nutr Metab (Lond) 2007; 4: 16.
348. Koletzko B, Demmelmair H, Socha P. Nutritional support of infants and children: supply and metabolism of lipids. Baillieres Clin Gastroenterol 1998; 12(4): 671-96.

349. Koletzko B, Larqué E, Demmelmair H. Placental transfer of long-chain polyunsaturated fatty acids (LC-PUFA). J Perinat Med 2007; 35 Suppl 1: S5-11.
350. Koletzko B, Braun M. Arachidonic acid and early human growth: is there a relation? Ann Nutr Metab 1991; 35(3): 128-31.
351. Leaf AA, Leighfield MJ, Costeloe KL, Crawford MA. Long chain polyunsaturated fatty acids and fetal growth. Early Hum Dev 1992; 30(3): 183-91.
352. Innis SM. Essential fatty acid transfer and fetal development. Placenta 2005; 26(Suppl A): S70-5.
353. Innis SM. Perinatal biochemistry and physiology of long chain polyunsaturated fatty acids. J Pediatr 2003; 143: S1-8.
354. Innis SM. Essential fatty acid metabolism during early development. In: Burrin DG, editor. Biology of metabolism in growing animals. Amsterdam: Elsevier Science, B.V.; 2004.
355. Luxon BA, Milliano MT. Cytoplasmic transport of fatty acids in rat enterocytes: role of binding to fatty acid-binding protein. Am J Physiol 1999; 277(2 Pt 1): G361-6.
356. Keating E, Gonçalves P, Lemos C, Costa F, Campos I, Smith SB, Bridges CC, Martel F. Progesterone inhibits folic acid transport in human trophoblasts. J Membr Biol 2007; 216(2-3): 143-52.
357. Masouyé I, Hagens G, van Kuppevelt TH, Madsen P, Saurat JH, Veerkamp JH, Pepper MS, Siegenthaler G. Endothelial cells of the human microvasculature express epidermal fatty acid-binding protein. Circ Res 1997; 81(3): 297-303.
358. Lavallée B, Provost PR, Roy R, Gauthier MC, Bélanger A. Dehydroepiandrosterone-fatty acid esters in human plasma: formation, transport and delivery to steroid target tissues. J Endocrinol 1996; 150 Suppl: S119-24.
359. Crawford MA, Hassam AG, Stevens PA. Essential fatty acid requirements in pregnancy and lactation with special reference to brain development. Prog Lipid Res 1991; 20: 31-40.
360. Elias SL, Innis SM. Newborn infant plasma trans, conjugated linoleic, n-6 and n-3 fatty acids are related to maternal plasma fatty acids, length of gestation and birth weight and length. Am J Clin Nutr 2001; 73: 807-14.
361. Sjögren P, Sierra-Johnson J, Gertow K, Rosell M, Vessby B, de Faire U, Hamsten A, Hellenius ML, Fisher RM. Fatty acid desaturases in human adipose tissue: relationships between gene expression, desaturation indexes and insulin resistance. Diabetologia 2008; 51(2): 328-35.
362. Li Z, Kaplan ML, Hachey D. Hepatic microsomal and peroxisomal docosahexaenoate biosyntesis during piglet development. Lipids 2000; 35: 1325-33.
363. Sanders TAB, Rana SK. Comparison of the metabolism of linoleic and linolenic acids in the fetal rat. Ann Nutr Metab 1987; 31: 349-53.

364. Arbuckle LD, Innis SM. Docosahexaenoic acid is transferred through maternal diet to milk and to tissues of natural milk-fed piglets. J Nutr 1993; 123: 1668-75.
365. Greiner RS, Winter J, Nathanielsz PW, Brenna JT. Brain docosahexaenoate accretion in fetal baboons, bioequivalence of dietary α-linolenic and docosahexaenoate acids. Pediatr Res 1997; 42: 826-34.
366. Innis SM, de La Presa Owens S. Dietary fatty acid composition in pregnancy alters neurite membrane fatty acids and dopamine in newborn rat brain. J Nutr 2001; 131: 118-22.
367. Cetin I, Giovannini N, Alvino G, Agostoni C, Riva E, Giovannini M, Pardi G. Intrauterine growth restriction is associated with changes in polyunsaturated fatty acid fetal-maternal relationships. Pediatr Res 2002; 52: 750–755.
368. Rapoport SI. In vivo approaches toquantifying and imaging brain arachidonic and docosahexaenoic acid metabolsim. Pediatrics 2003; 143: S26-34.
369. Connor WE, Lowensohn R, Hacher L. Increased docosahexaenoic acid levels in newborn infants by administration of sardines and fish oil during pregnancy. Lipids 1996; 31: S183-7.
370. Helland IB, Saugstad OD, Smith L, Saarem K, Soluoll R, Ganes T, et al. Similar effects on infants of n-3 and n-6 fatty acids supplementation to pregnant and lactating women. Pediatrics 2001; 108: E82-92.
371. de Groot RH, Hornstra G, van Houwelingen AC, Roumen F. Effect of alpha-linolenic acid supplementation during pregnancy on maternal and neonatal polyunsaturated fatty acid status and pregnancy outcome. Am J Clin 2004; 79: 251-60.
372. Amusquivar E, Herrera E. Influence of changes in dietary fatty acids during pregnancy on placental and fetal fatty acid profile in the rat. Biol Neonate 2003; 83: 136-45.
373. Auestad N, Halter R, Hall R, Blatter M, Bogle ML, Burks W, et al. Growth and development in term infants fed long-chain polyunsaturated fatty acids: a double-masked, randomizied, parallel, prospective, multivariate study. J Pediatr 2001; 108: 359-71.
374. Zimmer L,Vancassel S, Cantagrel S, Breton P, Delamanche S, Guilloteau D, et al. The dopamine mesocorticolimbic pathway is affected by deficiency in n-3 polyunsaturated fatty acids. Am J Clin Nutr 2002; 75: 662-77.
375. Herrera E, Amusquivar E. Lipid metabolism in the fetus and the newborn. Diabetes Metab Res Rev 2000; 16(3): 202-10.
376. Evers IM, Nikkels PG, Sikkema JM, Visser GH. Placental pathology in women with type 1 diabetes and in a control group with normal and large-for-gestational-age infants. Placenta 2003; 24(8-9): 819-25.
377. Jansson T, Cetin I, Powell TL, Desoye G, Radaelli T, Ericsson A, Sibley CP. Placental transport and metabolism in fetal overgrowth – a workshop report. Placenta 2006; 27 Suppl A: S109-13.

378. Dražančić A, Rodin U. Perinatalni mortalitet u Republici Hrvatskoj u 2006. godini. Gynaecol Perinatol 2007;16(Suppl.2):S1-S21.
379. Shimron-Nachmais L, Frishman S, Hod M. Dietary management of diabetic pregnancy. Harefuah 2006; 145(10): 768-72, 780.
380. Barnes-Powell LL. Infants of diabetic mothers: the effects of hyperglycemia on the fetus and neonate. Neonatal Netw 2007; 26(5): 283-90.
381. Min Y, Lowy C, Ghebremeskel K, Thomas B, Offley-Shore B, Crawford M. Unfavorable effect of type 1 and type 2 diabetes on maternal and fetal essential fatty acid status: a potential marker of fetal insulin resistance. Am J Clin Nutr 2005; 82(6): 1162-68.
382. Pettitt DJ, Baird HR, Aleck KA, Benett PH, Knowler WC. Excessive obesity in offspring of Pima Indian women with diabetes during pregnancy. N Engl J Med 1983; 308: 242-5.
383. Plagemann A, Harder T, Kohlhoff R, Rohde W, Dorner G. Glucose tolerance and insulin secretion in children of mothers with pregestational IDDM or gestational diabetes. Diabetologia 1997; 40: 1094-100.
384. Dabelea D, Hanson RL, Lindsay RS, Pettitt DJ, Imperatore G, Gabir MM, Roumain J, Bennett PH, Knowler WC. Intrauterine exposure to diabetes conveys risks for type 2 diabetes and obesity: a study of discordant sibships. Diabetes 2000; 49: 2208-11.
385. Weiss PA, Scholz HS, Haas J, Tamussino KF, Seissler J, Borkenstein MH. Long-term follow-up of infants of mothers with type 1 diabetes: evidence for hereditary and nonhereditary transmission of diabetes and precursors. Diabetes Care 2000; 23: 905-11.
386. Sobngwi E, Boudou P, Mauvais-Jarvis F, Leblanc H, Velho G, Vexiau P, Porcher R, Hadjadj S, Pratley R, Tataranni PA, Calvo F, Gautier JF. Effect of a diabetic environment in utero on predisposition to type 2 diabetes. Lancet 2003; 361: 1861-5.
387. Mohan IK, Das UN. Prevention of chemically induced diabetes mellitus in experimental animals by polyunsaturated fatty acids. Nutrition 2001; 17: 126-51.
388. Fronczak CM, Baron AE, Chase HP, Ross C, Brady HL, Hoffman M, Eisenbarth GS, Rewers M, Norris JM. In utero dietary exposures and risk of islet autoimmunity in children. Diabetes Care 2003; 26: 3237-42.
389. Virtanen SM, Knip M. Nutritional risk predictors of β cell autoimmunity and type 1 diabetes at a young age. Am J Clin Nutr 2003; 78: 1053-67.
390. Storlien LH, Pan DA, Kriketos AD, O`Connor J, Caterson ID, Cooney GJ, Jenkins AB, Baur LA. Skeletal muscle membrane lipids and insulin resistance. Lipids 1996; 31: S261-5.
391. Dražančić A, Stavljenić A. Free fatty acid determinations in normal and abnormal pregnancies. Amer J Obstet Gynec 1971; 666-669.
392. Decsi T, Minda H, Hermann R, Kozári A, Erhardt E, Burus I, Molnár S, Soltész G. Polyunsaturated fatty acids in plasma and erythrocite

membrane lipids of diabetic children. Prostaglandins Leukot Essent Fatty Acids 2002; 67: 203-10.
393. Rodriguez Y, Giri M, Rottiers R, Christophe AB. Obese type 2 diabetics and obese patients have comparable plasma phospholipid fatty acid compositions deviating from that of healthy individuals. Prostaglandins Leukot Essent Fatty Acids 2004; 71: 303-8.
394. Anderson GJ, Connor WE, Corliss JD. Docosahexaenoic acid is the preferred dietary n-3 fatty acid for the development of the brain and retina. Pediatr Res 1990; 27: 89-97.
395. Crawford MA, Costeloe K, Ghebremeskel K, Phylactos A, Skirvin L, Stacey F. Are deficits of arachidonic and docosahexaenoic acids responsible for the neural and vascular complications of preterm babies? Am J Clin Nutr 1997; 66: 1032S-41S.
396. Ramanadham S, Hsu F-F, Zhang S, Bohrer A, Ma Z, Turk J. Electrospray ionisation mass spectrometric analyses of phospholipids from INS-1 insulinoma cells: comparison to pancreatic islets and effects of fatty acid supplementation on phospholipid composition and insulin secretion. Biochem Biophy Acta 2000; 1484: 251-66.
397. Adiv OE, Mandel H, Shehadeh N, Knopf C, Shen-or Z, Shamir R. Influence of co-administration of oral insulin and docosahexaenoic acid in mice. J Nutr Biochem 2004; 15: 638-43.
398. Min Y, Lowy C, Ghebremeskel K, Thomas B, Bitsanis D, Crawford MA. Fetal erythrocyte membrane lipids modification: preliminary observation of an early sign of compromised insulin sensitivity in offspring of gestational diabetic women. Diabet Med 2005; 22: 914-20.
399. Wijendran V, Bendel RB, Couch SC, Philipson EH, Cheruku S, Lammi-Keefe CJ. Fetal erythrocyte phospholipid polyunsaturated fatty acids are altered in pregnancy complicated with gestational diabetes mellitus. Lipids 2000; 35: 927-31.
400. Konrad RJ, Major CD, Wolf BA. Diacylglycerol hydrolysis to arachidonic acid is necessary for insulin secretion from isolated pancreatic islets: sequential actions of diacylglycerol and monoacylglycerol lipase. Biochemistry 1994; 33: 13284-94.
401. Konrad T, Vicini P, Kusterer K, Höflich A, Assadkhani A, Böhles HJ, Sewell A, Tritschler HJ, Cobelli C, Usadel KH. α-Lipoic acid treatment decreases serum lactate and pyruvate concentrations and improves glucose effectiveness in lean and obese patients with type 2 diabetes. Diabetes Care 1999; 22(2): 280-7.
402. van Eijsden M, Hornstra G, van der Wal MF, Vrijkotte TG, Bonsel GJ. Maternal n-3, n-6, and trans fatty acid profile early in pregnancy and term birth weight: a prospective cohort study. Am J Clin Nutr 2008; 87(4): 887-95.
403. Moore RA, Oppert S, Eaton P, Mann JI. Triglyceride fatty acids confirm a change in dietary fat. Clin Endocrinol (Oxf) 1977; 7: 143-9.

404. Rump P, Mensink RP, Kester AD, Hornstra G. Essential fatty acid composition of plasma phospholipids and birth weight: a study in term neonates. Am J Clin Nutr 2001; 73(4): 797-806.
405. Baldini P, Incerpi S, Lambert-Gardini S, Spinedi A, Luly P. Membrane lipid alterations and Na^+-pumping activity in erythrocytes from IDDM and NIDDM subjects. Diabetes 1989; 38: 825-31.
406. Pelikanova T, Kohout M, Valek J, Base J, Stefka Z. Fatty acid composition of serum lipids and erythrocyte membranes in type 2 (non-insulin-dependent) diabetic men. Metabolism 1991; 40:175-80.
407. Tilvis RS, Taskinen MR, Miettinen TA. Effect of insulin treatment on fatty acids of plasma and erythrocyte membrane lipids in type 2 diabetes. Clin Chim Acta 1988; 171: 293-303.
408. Prisco D, Paniccia R, Coppo M, Vanni D, Rogasi PG, Tramontana M, Abbate R, Gensini GF. Red blood cell lipid alterations in type II diaberes mellitus. Thromb Res 1989; 54: 751-8.
409. Clandinin MT, Chappell JE, Leong S, Heim T, Swyer PR, Chance GW. Intrauterine fatty acid accretion rates in human brain: implications for fatty acid requirements. Early Hum Dev 1980; 4: 121-9.
410. Goldstein R, Levy E, Shafrir E. Increased maternal-fetal transport of fat in diabetes assessed by polyunsaturated fatty acid content in fetal lipids. Biol Neonate 1985; 47: 343-9.
411. Shafrir E, Barash V. Placental function in maternal-fetal fat transport in diabetes. Biol Neonate 1987; 51: 102-12.
412. Kaminsky S, Sibley CP, Maresh M, Thomas CR, D'Souza SW. The effects of diabetes on placental lipase activity in rat and human. Pediatr Res 1991; 30: 541-3.
413. Berger A, Roberts MA, Hoff B. How dietary arachidonic- and docosahexaenoic- acid rich oils differentially affect the murine hepatic transcriptome. Lipids Health Dis 2006; 5:10.
414. Kunesova M, Hainer V, Tvrzicka E, Phinney SD, Stich V, Parízková J, Zák A, Stunkard AJ. Assessment of dietary and genetic factors influencing serum and adipose fatty acid composition in obese female identical twins. Lipids 2002; 37: 27-32.
415. Field CJ, Ryan EA, Thomson AB, Clandinin MT. Dietary fat and the diabetic state alter insulin binding and the fatty acyl composition of the adipocyte plasma membrane. Biochem J 1988; 253: 417-24.
416. Storlien LH, Jenkins AB, Chisholm DJ, Pascoe WE, Khouri S, Kraegen EW. Influence of dietary fat composition on development of insulin resistance in rats. Relationship to muscle triglyceride and omega-3 fatty acids in muscle phospholipid. Diabetes 1991; 40: 280-9.
417. Herrera E, Amusquivar E, Lopez-Soldado I, Ortega H. Maternal lipid metabolism and placental lipid transfer. Horm Res 2006; 65 Suppl 3: 59-64.
418. Rosenn BM, Miodovnik M. J Matern Fetal Med 2000; 9(1): 29-34.
419. Schroeder F, Petrescu AD, Huang H, Atshaves BP, McIntosh AL, Martin GG, Hostetler HA, Vespa A, Landrock D, Landrock KK, Payne

HR, Kier AB. Role of fatty acid binding proteins and long chain fatty acids in modulating nuclear receptors and gene transcription. Lipids 2008; 43(1): 1-17.
420. Honda M, Lowy C, Thomas CR. The effects of maternal diabetes on placental transfer of essential and non-essential fatty acids in the rat. Diabetes Res 1990; 15(1): 47-51.
421. Haggarty P, Ashton J, Joynson M, Abramovich DR, Page K. Effect of maternal polyunsaturated fatty acid concentration on transport by the human placenta. Biol Neonate 1999; 75(6): 350-9.
422. Kuhn DC, Crawford MA, Stuart MJ, Botti JJ, Demers LM. Alterations in transfer and lipid distribution of arachidonic acid in placentas of diabetic pregnancies. Diabetes 1990; 39(8): 914-8.
423. Ornoy A. Embryonic oxidative stress as a mechanism of teratogenesis with special emphasis on diabetic embryopathy. Reprod Toxicol 2007; 24(1): 31-41.
424. White V, Jawerbaum A, Sinner D, Pustovrh C, Capobianco E, Gonzalez E. Oxidative stress and altered prostanoid production in the placenta of streptozocin-induced diabetic rats. Reprod Fertil Dev 2002; 14(1-2): 117-23.
425. Myatt L, Kossenjans W, Sahay R, Eis A, Brockman D. Oxidative stress causes vascular dysfunction in the placenta. J Matern Fetal Med 2000; 9(1): 79-82.
426. Myatt L. Placental adaptive responses and fetal programming. J Physiol 2006; 572(1): 25-30.

10. Popis slika:

Slika br. 1: UZV aparat na Odjelu za dijabetes i fetalni rast (RCZDT); GE Voluson 730® Ultrasound System, proizvođač: „National Ultrasound Inc., 2730 N Berkeley Lake Rd., Suite B-400 Duluth, Georgia, USA", vlastita fotografija

Slika br. 2: Büchijev uparivač na Zavodu za kemiju i biokemiju Medicinskog fakulteta Sveučilišta u Zagrebu; proizvod: „LabX, ON, Canada", vlastita fotografija

Slika br. 3: Staklene ploče veličine 10 x 20 cm (Merck KgaA, Darmstadt, Germany), vlastita fotografija

Slika br. 4: Plinski kromatograf SRI 8610C GAS CHROMATOGRAPH na Zavodu za kemiju i biokemiju Medicinskog fakulteta Sveučilišta u Zagrebu; proizvod: „SRI Instruments Chromatography Systems, Torrance, CA, USA", vlastita fotografija

11. ŽIVOTOPIS:

Rođen je 12. kolovoza 1961. godine u Zagrebu. Oženjen je, otac je troje djece. Djelatnik je Klinike za ženske bolesti i porode KBC-a u Zagrebu, na Odjelu za dijabetes i fetalni rast, koji djeluje istovremeno kao Referentni centar za dijabetes u trudnoći Ministarstva zdravstva i socijalne skrbi RH. Trenutačno se nalazi na užoj specijalizaciji iz fetalne medicine i opstetricije na spomenutoj klinici.

Osnovno obrazovanje je završio u Zagrebu. Poslije osnovnog obrazovanja srednje obrazovanje nastavlja u Matematičko-informatičkom obrazovnom centru u Zagrebu. Nakon premedicinske edukacije svoje obrazovanje nastavlja na Medicinskom fakultetu Sveučilišta u Zagrebu. Tijekom studija aktivno je radio kao demonstrator na tri katedre (biologija, patofiziologija, opća patološka anatomija). Nakon završenog visokog obrazovanja u zimskom semestru 1991./1992. god. promoviran je u zvanje doktora medicine. Svoje daljnje medicinsko i stručno usavršavanje nastavlja u KBC Zagreb, gdje je odradio pripravnički staž, te kraće vrijeme proveo u DZ Sesvete. U proljeće 1994. godine primljen je na specijalizaciju iz ginekologije i opstetricije za Klinički Bolnički Centar - Zagreb. Tijekom specijalizacije obavio je i poslijediplomsku edukaciju. Završio je poslijediplomski znanstveni studij "UZV u kliničkoj medicini", smjer ginekologija i porodništvo MF Sveučilišta u Zagrebu. Stekao je akademski stupanj magistra znanosti, prije specijalističkog ispita, iz znanstvenog područja biomedicine i zdravstva 25. lipnja 1998. godine s temom magistarskog rada: "Utjecaj glikemije na rani embrionalni razvoj u trudnica dijabetičarki". Od 31.kolovoza1998. godine, kad je stekao naziv specijalist ginekologije i opstetricije, djeluje i radi na Odjelu za dijabetes i fetalni rast Klinike za ženske bolesti i porode KBC Zagreb. Nakon prijave teme doktorske disertacije s naslovom: „Sadržaj lipida u posteljicama trudnica oboljelih od tipa 1 šećerne bolesti“ 16. prosinca 2003. godine Povjerenstvo Fakultetskog vijeća prihvaća predloženu temu doktorske disertacije.

Svakodnevno provodi stručno, teoretsko i praktično usavršavanje sudjelujući na domaćim i međunarodno priznatim kongresima, znanstvenim skupovima, simpozijima i stručnim sastancima. Objavljuje stručne i znanstvene radove u domaćim i stranim

časopisima. Radovi su prikazani u obliku predavanja, postera ili članaka u časopisima. Sudjeluje u edukaciji studenata Medicinskog fakulteta iz kolegija ginekologije i opstetricije održavajući seminare i vježbe. Sudjelovao je u programu poslijediplomske edukacije iz poslijediplomskog studija „Zaštita majke i djeteta“ s predavanjem „Antenatalna dijagnostika fetalnih malformacija“. Redovito sudjeluje kao predavač na međunarodnom poslijediplomskom studiju klinike Vuk Vrhovac iz dijabetologije s naslovima: Dijabetes i malformacije, Utjecaj glikemije na rani embrionalni razvoj u trudnica dijabetičarki, Posteljica dijabetičkih trudnica. Do sada je objavio šest radova u međunarodno priznatoj literaturi, te više radova po domaćim i stranim kongresima. Do sada je sudjelovao u pet projekata, objavio je više poglavlja u stranim i domaćim knjigama. Posjeduje znanje dva svjetska jezika, engleskog i njemačkog. Član je Hrvatskog liječničkog zbora (HLZ), član Hrvatske liječničke komore (HLK), član Hrvatskog liječničkog društva za perinatalnu medicinu (HDPM), član Hrvatskog društva ginekologa i opstetričara (HDGO), član Hrvatskog društva za ginekološku endoskopiju (HDGE), član Hrvatskog društva za unaprijeđenje beskrvnog liječenja (HDUBL).

11.1. Radovi u međunarodno priznatoj literaturi

1) Đelmiš Josip; Mayer Davor; Majerović Mate; Radanović Branko; **Starčević Vito**. Giant uterine leiomyoma devascularized by embolisation prior to surgical removal.
II European Journal of Obstetrics and Gynaecology and Reproductive Biology 92(2000), 2:225-227. (rad u časopisu, CC) 99(2001), 2:278-280

2) Ivanišević Marina; Buković Damir; **Starčević Vito**; Đelmiš Josip; Pfeifer Dina. Influence of hyperglycemia on early embryonal growth in IDDM pregnant women.
Coll Antropol 1999 Jun;23(1):183-8. (rad u časopisu, CC)

3) Đelmiš Josip; Ivanišević Marina; Mayer Davor; Tuzović Lea; **Starčević Vito**; Ilijić Marcela. Placenta Growth Factor in Healthy and Diabetic Mothers and Their Fetuses. World Congress of Perinatal Medicine, Barcelona 2001.
Perinatology 2001; 4443-438 i 671-674 (rad u časopisu, CC)

4) **Starčević Vito**; Đelmiš Josip; Ivanišević Marina; Mayer Davor. The effect of glycemia on early embryonic development in diabetic pregnancies.
Prenatal and Neonatal Medicine 2001; 6:208-213. (rad u časopisu, CC)

5) Bljajić D, Ivanišević M, Đelmiš J, Majerović M, **Starčević V**. Splenic rupture in pregnancy – traumatic or spontaneous event? A case report.
Rad prihvaćen 25.6.2003. godine u časopisu European Journal of Obstetrics & Gynecology and Reproductive Biology (rad u časopisu, CC)
Eur J Obstet Gynecol Reprod Biol. 2004 Jul 15; 115(1): 113-114.

6) **Starčević Vito**, Đelmiš Josip. Utjecaj regulacije glikemije na učestalost preeklampsije u trudnica s gestacijskim dijabetesom. Acta Medica Croatica 2004; 58: 367-371. (izvorni rad u časopisu, Medline/Index Medicus)

11.2. Poglavlja u knjigama

1. Đelmiš J, Ivanišević M, Mayer D, Tuzović L, Starčević V, Ilijić M. Placenta growth factor in healthy and diabetic mothers and their fetuses. Perinatology 2001; 433-438.
World Congress of Perinatal Medicine, Zbornik radova, Barcelona 2001.

2. Objavljena knjiga pod naslovom: Dijabetes i trudnoća; autor: Josip Đelmiš i suradnici, u okviru poslijediplomskog tečaja I kategorije za trajno usavršavanje liječnika; poglavlje u knjizi pod naslovom: Epidemiologija, patogeneza i prevencija prirođenih malformacija; Nakladnik: Medias d.o.o. Zagreb 2002. ISBN 953-98622-0-5

3. Objavljena knjiga pod naslovom: Neurološke bolesti u trudnoći autor: Josip Đelmiš i suradnici, u okviru poslijediplomskog tečaja I kategorije za trajno usavršavanje liječnika; poglavlje u knjizi pod naslovom: Lumbosakralni sindrom i trudnoća, autori: Marija Šoštarko i Vito Starčević;
Nakladnik: Prof dr sc. Josip Đelmiš Zagreb 2002. ISBN 953-98622-2-1

4. Objavljena knjiga pod naslovom: Hitna stanja u ginekologiji i porodništvu; autor: Josip Đelmiš i suradnici; poglavlja u knjizi:
   1) Vaginalni iscjedak, autor Vito Starčević;
   2) Sifilis, autori Vito Starčević i Višnja Škerk.

Nakladnik: Prof dr sc. Josip Đelmiš Zagreb 2003. ISBN 953-98622-3-X

5. Objavljena knjiga pod naslovom: «Lijekovi u trudnoći i laktaciji»; autor Josip Đelmiš i suradnici, u okviru poslijediplomskog tečaja stalnog medicinskog usavršavanja I kategorije od 24. do 25.10.2003.; KBC Rebro, Kišpatićeva 12, Zagreb; poglavlje u knjizi: Upotreba biljnih lijekova u trudnoći;
Nakladnik: Prof dr sc. Josip Đelmiš Zagreb 2003. ISBN 953-98622-4-8

6. Objavljena knjiga pod naslovom: « Hitna stanja u ginekologiji, porodništvu i neonatologiji»; autor Josip Đelmiš i suradnici, u okviru poslijediplomskog tečaja stalnog medicinskog usavršavanja I kategorije od 13. do 15. ožujak 2008.; Hrvatski liječnički zbor, Šubićeva 9; poglavlje u knjizi: Bolesti vagine i vulve;
Nakladnik: Prof dr sc. Josip Đelmiš Zagreb 2008. ISBN .....

11.3. Sudjelovanje na kongresima (radovi), stručnim sastancima, simpozijima, tečajevima; sažeci u zbornicima radova i neobjavljeni radovi

- 1.-2.12.1995. **IX poslijediplomski tečaj iz ginekologije i perinatologije** za trajno usavršavanje liječnika; voditelji tečaja: prof. dr Grizelj V., prof. dr Kuvačić I., Klinika za ženske bolesti i porode Petrova 13, Zagreb

- 6.-7.11.1996. Hotel Inter-Continental Zagreb, **znanstveni simpozij:** Prevencija i dijagnostika tumora ženskog spolnog sustava. Sudjelovanje u svojstvu slušača vrednovano prema odluci HLK s 4 boda.

- 4.-7.6.1997. **Prvi Hrvatski Dijabetolški Kongres u Dubrovniku**, djelatno sudjelovanje s radovima prikazanim u obliku postera: 1) Starčević V., Đelmiš J., Dražančić A.: Utjecaj glikemije na embrionalni rast u trudnica s inzulin ovisnim dijabetesom; 2) Blajić J., Starčević V., Pfeifer D.: Razina HbA_1c i incidencija pobačaja i prijevremenog poroda u trudnica s gestacijskim i inzulin ovisnim dijabetesom; bodovano odlukom HLK s 20 bodova

- 2.2.1998. uredništvo **časopisa Diabetologia Croatica** potvrđuje članak pod naslovom Influence of hyperglycemia on early embryonic growth in IDDM pregnant women, autora Ivanišević M., Đelmiš J., Starčević V. da je zaprimljen u Uredništvo, te će isti biti tiskan u broju 1/98. god., kao Scientific paper.

- 10.-13.6.1998. **XVI Europski kongres perinatalne medicine u Zagrebu;** aktivno sudjelovanje s radovima:
1) Starčević V., Đelmiš J., Ivanišević M.: Ifluence of maternal glycemia on embryonal growth in insulin dependent diabetes mellitus. (predavanje);
2) Kendić Sulejman, Đelmiš Josip, Starčević Vito, Ivanišević Marina; Coagulation changes in patients with severe praeeclampsia and fetal growth. Abstracts of the XVI European Congress of Perinatal Medicine, Prenatal and Neonatal Medicine: International Journal of Basic and Clinical Research and Practice, 3(1998), suppl. 1/DiRenzo Gian Carlo (ur.). Huddersfield UK: The Parthenon Publishing Group, 1998. 117-177. (rad u zborniku); bodovano prema odluci HLK s 20 bodova

- 13.11.1998. **znanstveni skup u sustavu trajnog usavršavanja:** Telemedicina u Hrvatskoj; sudjelovanje kao slušač; bodovano prema odluci HLK s 6 bodova (potvdnica)

- 7.-10.4.1999. Hotel Inter-Continental Zagreb **XVII Perinatalni dani u Zagrebu;** sudjelovanje s radovima:
1) Starčević V., Đelmiš J., Ivanišević M., Mayer D.: Utjecaj maternalne glikemije na rast embrija u o inzulinu ovisnih trudnica.
2) Blajić J., Đelmiš J., Ivanišević M., Starčević V.: Porod djece vrlo niske porodne težine.
3) Blajić J., Đelmiš J., Ivanišević M., Starčević V.: Asfiksija i carski rez.

4) Škvorc N., Starčević V., Mayer D., Ivanišević M., Blajić J.: Prijevremeni porod u stavu zatkom. sudjelovanje na skupu u svojstvu predavača bodovano odlukom HLK s 15 bodova

- 24.11.1999. **stručni sastanak klinike:** MRSA infekcija - klinički aspekti. KBC Klinika za ženske bolesti i porode

- 1.12.1999. **stručni sastanak klinike:** Endoskopija u humanoj reprodukciji. KBC Klinika za ženske bolesti i porode

- 8.12.1999. **stručni sastanak klinike:** 40 godina skrbi za dijabetičku trudnicu. KBC Klinika za ženske bolesti i porode

- 15.12.1999. **stručni sastanak klinike:** Planiranje obitelji i doprinos populacijskoj politici RH. KBC Klinika za ženske bolesti i porode

- 9.2.2000. **stručni sastanak klinike:** Promicanje dojenja - rooming in u rodilištu, te Antitrombin III u procjeni morbiditeta prijevremeno rođene djece. KBC Klinika za ženske bolesti i porode

- 23.2.2000. **stručni sastanak klinike:** Citologija uzročnika spolno prenosivih bolesti u adolescentica i mladih žena u tri razdoblja, Citološke atipije vrata maternice u adolescentica i mladih žena u tri razdoblja, Citološko praćenje poslije biopsija i konizacija. KBC Klinika za ženske bolesti i porode

- 8.3.2000. **stručni sastanak klinike:** HPV infekcija i rak vrata maternice. KBC Klinika za ženske bolesti i porode

- 22.3.2000. **stručni sastanak klinike:** Konzervativno liječenje u uroginekologiji. KBC Klinika za ženske bolesti i porode

- 2.11.2000. **stručni sastanak klinike:** Kolonizacija vrata maternice i ishod trudnoće, te Infekcija beta hemolitičkim streptokokom u novorođenčeta. KBC Klinika za ženske bolesti i porode

- 14.12.2000. **stručni sastanak klinike:** Mogućnosti operacijskog liječenja poremećaja mokraćnog sustava žene, te Mogućnosti konzervativnog liječenja poremećaja mokraćnog sustava žene. KBC Klinika za ženske bolesti i porode

- 5.4.2000. **stručni sastanak klinike:** Izvanmaternične trudnoće u postupku izvantjelesne oplodnje. KBC Klinika za ženske bolesti i porode

- 19.4.2000. **stručni sastanak klinike:** Pristup započetom prijevremenom porodu.
KBC Klinika za ženske bolesti i porode

- 17.5.2000. **stručni sastanak klinike:** Ultrazvuk mozga u neonatalnoj dobi. Slušni evocirani potencijali u novorođenčadi i nedonoščadi. KBC Klinika za ženske bolesti i porode

- 31.5.2000. **stručni sastanak klinike:** Biologija urogenitalnih bakterija. KBC Klinika za ženske bolesti i porode

- 16.-17.6.2000. HLZ, Šubićeva 9 poslijediplomski **tečaj trajnog usavršavanja liječnika I kategorije** s međunarodnim sudjelovanjem; **Novosti u perinatalnoj medicini;** voditelj tečaja prof.dr.Josip Đelmiš i prim.mr.sc. Jelena Polak Babić;

- 15.-16.12.2000. HLZ, Šubićeva 9 poslijediplomski **tematski tečaj trajnog usavršavanja liječnika I kategorije** s međunarodnim sudjelovanjem; **Prostaglandini u ginekologiji, porodništvu i dodirnim područjima;** voditelj tečaja prof.dr.Josip Đelmiš;

- 11.1.2001. **stručni sastanak klinike:** Postupnik za dijagnostiku i liječenje preinvazivnih lezija ženskog spolnog sustava. KBC Klinika za ženske bolesti i porode

- 18.1.2001. **stručni sastanak klinike:** HIV infekcija i trudnoća. KBC Klinika za ženske bolesti i porode

- 23. 5. 2001. ZV Dvorana Brijuni od l5.00 do l8.00 sati: **III Simpozij Minimalno invazivna kirurgija,** prijenos različitih endoskopskih operacija u živo, iz operacijskih dvorana OB u Zaboku, skup će biti bodovan prema pravilniku HLK;

- 7.6.2001. u 14.00 sati, velika predavaonica "Miroslav Čačković", MF, Šalata 3/I, Zagreb: **Znanstvena tribina s temom: ZNANSTVENI NAPREDAK U PRIKAZIVANJU I NADZORU RAZVOJA LJUDSKOG PLODA OD ZAČEĆA DO PORODA**; predavač prof.dr. Asim Kurjak;

- 15.-16.6.2001. HLZ, Šubićeva 9, poslijediplomski **tečaj trajnog usavršavanja liječnika I kategorije** s međunarodnim sudjelovanjem; **Novije spoznaje o ulozi placente;** voditelj tečaja prof.dr.Josip Đelmiš i prof.dr. Marina Ivanišević;

- 4.-7.6.2001. u organizaciji društva za dijabetes i poremećaje metabolizma HLZ održan je **II Hrvatski Dijabetološki kongres** s međunarodnim sudjelovanjem, sukladno s tim HLK izdaje potvrdnicu br. 006457 o sudjelovanju za predavača

- 15.-16.2.2002. HLZ, Šubićeva 9, poslijediplomski **tečaj trajnog usavršavanja liječnika I kategorije** s međunarodnim sudjelovanjem; **Dijabetes i trudnoća;** voditelj tečaja prof.dr.Josip Đelmiš i prof.dr. Marina Ivanišević; poglavlje u knjizi(Dijabetes i trudnoća), te aktivno sudjelovanje s predavanjem pod naslovom: Epidemiologija, patogeneza i prevencija kongenitalnih malformacija

- 28.2.2002. **stručni sastanak klinike:** Niskomolekularni heparin u trudnoći i ginekološkoj onkologiji /Pharmacia/;

1.) dr S. Župačić-Šale: Niskomolekularni heparin

2.) dr A. Sirovec: Poremećaj mehanizma zgrušavanja krvi i niskomolekulrni heparin u trudnoći

3.) dr S. Lide-Škalec: Prevencija i liječenje niskomolekularnim heparinom u ginekološkoj onkologiji

- 17.4.2002. predkongresni **tečaj stalnog usavršavanja liječnika I kategorije** s međunarodnim sudjelovanjem, Hotel Opera u Zagrebu; **Hipertenzija i trudnoća**; voditelj tečaja prof.dr.Josip Đelmiš i prof.dr. Marina Ivanišević; sudjelovanje u organizacijskom odboru, bodovi (potvrdnica) + mini simpozij, predstavljanje lijeka - Fragmin

- 18.-20.4.2002. **XIX Perinatalni dani**, Hotel Opera, Zagreb; sudjelovanje u organizacijskom odboru, te aktivno sudjelovanje s predavanjem: Starčević, Đelmiš, Ivanišević, Tuzović, Bljajić, Ilijić: Učestalost kongenitalnih malformacija djece dijabetičnih majki: retrospektivna studija; bodovi
+ **mini simpozij pod pokroviteljstvom Mediasa d.o.o.,** Uloga mikroniziranog progesterona - Utrogestana u ginekologiji i porodništvu
+ **mini simpozij pod pokroviteljstvom Pfeizer H.C.P. Corporation**, Primjena Diflucana u ginekologiji
+ **mini simpozij pod pokroviteljstvom Oktal Pharme d.o.o.,** Primjena Octenisepta u ginekologiji i porodništvu
+ **Predstavljanje proizvoda pod pokroviteljstvom Oktal Pharme d.o.o.,** Care Plan

- 28.9.2002. poslijediplomski **tečaj trajnog usavršavanja liječnika II kategorije, tečaj obnove znanja** Virovitica, 2002.; **Novosti u perinatalnoj medicini**; voditelj tečaja prof.dr.Josip Đelmiš i prof.dr. Marina Ivanišević;

- 25.-26.10.2002. XXIV Alpe Adria Meeting, XVI Congress of Perinatal Medicine, Hotel Szieszta, Sopron, Hungary; aktivno sudjelovanje s radom:
1) Glycemic control and the risk of preeclampsia in women with gestational diabetes mellitus; autori: Vito Starčević, Josip Đelmiš, Marcela Ilijić, Lea Tuzović, Danko Bljajić

- 12.-13.12.2002. Hrvatski liječnički dom, Šubićeva 9, Zagreb; **poslijediplomski tečaj trajnog usavršavanja liječnika I kategorije Neurološke bolesti i trudnoća**; voditelji tečaja: prof. dr sc. Marija Šoštarko i prof. dr sc. Marina Ivanišević, predavanje i poglavlje u knjizi

- 23.1.2003. **stručni sastanak klinike:** SERM-selektivni modulator estrogenih receptora RALOKSIFEN-klinički značaj. KBC Klinika za ženske bolesti i porode. /Predavač: prof. dr sc. Velimir Šimunić/.

- 13.2.2003. **stručni sastanak klinike:** Paklitaksel u liječenju raka jajnika – naši rezultati. KBC Klinika za ženske bolesti i porode. /Predavač: dr V. Matković/ HLK

- 28.-29.3.2003. Hotel Opera, Kršnjavoga 1, Zagreb; **poslijediplomski tečaj trajnog usavršavanja liječnika I kategorije «Hitna stanja u ginekologiji i porodništvu»**; voditelji tečaja: prof. dr sc. Josip Đelmiš i prof. dr sc. Marina Ivanišević, predavanje i dva poglavlja u knjizi:
a) autor – Vito Starčević: *Vaginalni iscjedak*
b) autori – Vito Starčević, Višnja Škerk: *Sifilis*

- 10.-11.10.2003. Hotel Habakuk, Maribor/Slovenia; **XXV Alpe Adria Meeting of Perinatal Medicine; XVII Congress Maribor**; aktivno sudjelovanje s pozvanim predavanjem: «Postpartalne hemoragije»; autori: Vito Starčević, Josip Đelmiš

- 24.-25.10.2003. KBC Rebro, Kišpatićeva 12, Zagreb; **poslijediplomski tečaj trajnog usavršavanja liječnika I kategorije «Lijekovi u trudnoći i laktaciji»**; voditelji tečaja: prof.dr sc. Igor Francetić, prof. dr sc. Marina Ivanišević, prof. dr sc. Josip Đelmiš; predavanje i poglavlje u knjizi «Lijekovi u trudnoći i laktaciji»: autor – Vito Starčević: *Upotreba biljnih lijekova u trudnoći.*

- 22.11.2003. Klinika za infektivne bolesti «Dr Fran Mihaljević», Mirogojska 8, Zagreb; **tečaj trajne edukacije: «Antimikrobna terapija-smjernice liječenja i prevencije urogenitalnih infekcija, spolno prenosivih bolesti uključujući HIV infekciju»**; voditelji tečaja u organizaciji Hrvatskog Društva za Urogenitalne infekcije i Hrvatski Liječnički Zbor;

- 28.-29.5.2004. Hrvatski liječnički dom Zagreb, Šubićeva 9; **poslijediplomski tečaj trajnog usavršavanja liječnika I kategorije «Bolesti štitnjače u trudnoći»;** voditelji tečaja:, prof. dr sc. Josip Đelmiš, Akademik prof.dr.sc. Zvonko Kusić, prof. dr sc. Marina Ivanišević;

- 20.-22.10.2004. **«XXI perinatalni dani Ante Dražančić»** Hotel Termia, Bizovačke toplice u organizaciji HLZ, HDPM i odjel za ginekologiju i porodništvo KB Osijek pod vodstvom predsjednika Organizacijskog odbora dr.sc. D.Habek. Aktivno sudjelovanje s dva rada:

1) V.Starčević, J.Đelmiš, M.Ivanišević, J.Blajić: Utjecaj regulacije glikemije na učestalost preeklampsije u trudnica s gestacijskim dijabetesom.
2) J.Blajić, V.Starčević, D.Bljajić: Porod nakon carskog reza.

- 25.11.2004. u 13.00 sati dvorana Hugo Botteri, KBC-Rebro, drugi mini simpozij Hrvatskog društva za unaprijeđenje beskrvnog liječenja i Hrvatskog društva za hematologiju i transfuzijsku medicinu s temom «**Etiopatogeneza i liječenje sideropenične anemije, autotransfuzijska praksa danas**»

- Objavljena skraćena verzija rada u Biltenu o lijekovima KBC-a i KB Merkur u broju 10, prosinac 2004. s naslovom: **Primjena heparina niske molekularne težine u trudnoći**; autor V.Starčević;

- Medilab d.o.o. Hondlova 2/9; jednodnevni tečaj o primjeni inzulinske pumpe u osoba oboljelih od dijabetesa; 22.4.2005. od 9.00 do 20.00 sati; moderatori: prof. dr Željko Metelko i prof. dr Miroslav Dumić

- 17.-21.5.2005. Hotel Donat, Zadar, **III Hrvatski Dijabetološki kongres** s međunarodnim sudjelovanjem, sukladno s tim HLK izdaje potvrdnicu br. 093143 o sudjelovanju za predavača; bodovi 15; aktivno sudjelovanje s četiri rada prikazanih u obliku postera:

1) Starčević, Vito; Đelmiš, Josip; Ivanišević, Marina; Blajić, Jozo; Franičević, Davor; Bljajić, Danko. Utjecaj regulacije glikemije na učestalost preeklampsije u trudnica s gestacijskim dijabetesom // Liječnički vjesnik godište 127; suplement 1: Treći hrvatski dijabetološki kongres: Knjiga sažetaka / Čikeš Nada (ur.). Zagreb: Liječnički vjesnik, 2005. 3-37 (sažetak, stručni rad).

2) Starčević, Vito; Đelmiš, Josip; Ivanišević, Marina; Blajić, Jozo; Franičević, Davor; Bljajić, Danko. Embrionalni rast u trudnica s tipom 1 šećerne bolesti // Liječnički vjesnik godište 127; suplement 1: Treći hrvatski dijabetološki kongres: Knjiga sažetaka / Čikeš Nada (ur.). Zagreb: Liječnički vjesnik, 2005. 40-40 (sažetak, znanstveni rad).

3) Starčević, Vito; Đelmiš, Josip; Ivanišević, Marina; Blajić, Jozo; Franičević, Davor; Bljajić, Danko. Glikozilirani hemoglobin A1c kao prediktor fetalnog ishoda u trudnica s tipom 1 šećerne bolesti // Liječnički vjesnik godište 127; suplement 1: Treći hrvatski dijabetološki kongres: Knjiga sažetaka / Čikeš Nada (ur.). Zagreb: Liječnički vjesnik, 2005. 41-41 (sažetak, znanstveni rad).

4) Đelmiš, Josip; Ivanišević, Marina; Starčević, Vito; Franičević, Davor; Bljajić, Danko; Herman, Mislav. Ishod trudnoće u trudnica s dijabetičnom nefropatijom // Liječnički vjesnik godište 127; suplement 1: Treći hrvatski dijabetološki kongres: Knjiga sažetaka / Čikeš Nada (ur.). Zagreb: Liječnički vjesnik, 2005. 37-37 (sažetak, stručni rad).

- 22.-25.9.2005. Hotel Westin, Zagreb, **I KongresHrvatskog Društva za unaprijeđenje beskrvnog liječenja** s međunarodnim sudjelovanjem, sukladno s tim HLK izdaje potvrdnicu br. 101570 o sudjelovanju; bodovi 10; aktivno sudjelovanje s radom:

1) Korekcija anemije u trudnoći i nakon poroda. Blajić J., Starčević V., Bernt T., Bajramović D., Blajić I.

- 26.11.2005. Klinika za infektivne bolesti «Dr Fran Mihaljević», Mirogojska 8, Zagreb; **tečaj trajne edukacije: «Najvažnije virusne spolno prenosive, urogenitalne i druge infekcije u svakodnevnoj liječničkoj praksi»**; voditelji tečaja u organizaciji Hrvatskog Društva za urogenitalne i spolno prenosive infekcije i Hrvatski Liječnički Zbor;

- 13.-15.3.2008. Hrvatski liječnički zbor, Šubićeva 9; poslijediplomski **tečaj stalnog medicinskog usavršavanja liječnika I kategorije** od 13. do 15. ožujak 2008.; Hitna stanja u ginekologiji, porodništvu i neonatologiji; poglavlje u knjizi: Bolesti vagine i vulve