

УНИВЕРЗИТЕТ У КРАГУЈЕВЦУ
ФАКУЛТЕТ МЕДИЦИНСКИХ НАУКА

ПРИМЉЕНО 28.12.2017			
Срјед.	Беој	Прилог	Бројност
05	15 885/9-9		

УНИВЕРЗИТЕТ У КРАГУЈЕВЦУ
ФАКУЛТЕТ МЕДИЦИНСКИХ НАУКА
НАСТАВНО-НАУЧНОМ ВЕЋУ

1. Одлука Већа за медицинске науке Универзитета у Крагујевцу

Одлуком Већа за медицинске науке Универзитета у Крагујевцу, број IV-03-1119/41 од 06.12.2017. године, именовани су чланови комисије за оцену научне заснованости теме докторске дисертације кандидата **Биљане Јаковљевић** под називом:

“Утицај различитих модалитета физичке активности на крвни притисак и функцију миокарда пацова“

На основу одлуке Већа за медицинске науке, формирана је комисија у саставу:

1. Проф. др Гвозден Росић, редовни професор Факултета медицинских наука Универзитета у Крагујевцу за ужу научну област *Физиологија*, председник;
2. Проф. др Драган Радовановић, редовни професор Факултета физичке културе и спорта Универзитета у Нишу за ужу научну област *Физиологија*, члан;
3. Доц. др Иван Срејовић, доцент Факултета медицинских наука Универзитета у Крагујевцу за ужу научну област *Физиологија*, члан;

На основу увида у приложену документацију, Комисија подноси Наставно-научном већу Факултета медицинских наука Универзитета у Крагујевцу следећи

ИЗВЕШТАЈ

Кандидат **Биљана Јаковљевић** испуњава све услове предвиђене Законом о високом образовању и Статутом Факултета медицинских наука Универзитета у Крагујевцу за израду докторске дисертације.

2.1. Кратка биографија кандидата

Биљана Јаковљевић је рођена 1975. године у Београду. Зваршила је Средњу медицинску школу (1991-1994), а потом и Вишу медицинску школу (1994-1997) у Београду. Мастер студије на Факултету педагошких наука у Јагодини, смер предшколски васпитач је уписала 2012. године, а мастер рад одбранила 04.06.2015, са оценом 10. Докторске академске студије на Факултету медицинских наука Универзитета у Крагујевцу је уписала 2015. године, смер Експериментална и примењена физиологија са спортском медицином. Ради као сарадник у настави, на Високој медицинској школи струковних студија „Милутин Миланковић“, за предмете: Здравствена нега 1 и 2 и Здравствена нега у интерној медицини.

2.2. Наслов, предмет и хипотезе докторске тезе

Наслов: “Утицај различитих модалитета физичке активности на крвни притисак и функцију миокарда пацова“

Предмет: Испитивање утицаја различитих модалитета физичке активности на вредност крвног притиска и функцију миокарда нормотензивних и хипертензивних пацова.

Хипотезе:

- Пажљиво програмирана физичка активност може да редукује вредности крвног притиска хипертензивних пацова, док га не мења битније код нормотензивних пацова.
- Континуирано вежбање умереног и високог интензитета може да појача снагу контракције и коронарну реактивност миокарда изолованог срца нормотензивних пацова и побољша функцију и перфузију миокарда хипертензивних пацова.
- Пажљиво испланирана физичка активности, било умереног или високог интензитета не узрокује претерану производњу слободних радикала и повећава активности антиоксидационих ензима заштите, код хипертензивних и нормотензивних пацова.
- Хистолошком анализом би требало да се утврде мања оштећења на скелетном мишићу, срцу и аорти хипертензивних пацова која су била изложена физичком активношћу, седентерне пацове са хипертензијом.

2.3. Испуњеност услова за пријаву теме докторске дисертације

Кандидат, Биљана Јаковљевић, је објавила рад у целини у часопису категорије M51, у коме је први аутор, чиме је стекла услов за пријаву теме докторске дисертације.

1. **Jakovljevic B, Plecevic S, Petkovic A, Nikolic Turnic T, Milosavljevic I, Radoman K, Srejsovic I.** Is 3 weeks of exercise enough to change blood pressure and cardiac redox state in hypertensive rats? *Serb J Exp Clin Res.* 2017; doi: 10.1515/sjecr-2017-0049. **M51**

2.4. Преглед стања у подручју истраживања

Повишен крвни притисак односно хипертензија представља мултифакторску болест чија се дијагноза поставља у стањима када су вредности систолног крвног притиска (SP) ≥ 140 mmHg и/или дијастолног (DP) ≥ 90 mmHg. Представља глобални јавноздравствени проблем данашњице чија је учесталост у сталном порасту како у свету, тако и код нас. Новије епидемиолошке студије наводе да ће до краја 2025. године једна трећина одраслог светског становништва боловати од неког облика хипертензије. У великој мери доприноси и као фактор ризика за појаву срчане и бубрежне инсуфицијенције, можданог удара, коронарне артеријске болести. У високо развијеним земљама света представља водећи узрок морталитета, са преваленцом од 55% код мушкараца, односно 65% код жена старијих од 60 година.

С обзиром да су трошкови лечења касних компликација ове болести, несагледиви и за појединца и за друштво у целини, све је веће интересовање за испитивање значаја промена животних навика, а нарочито физичке активности у превенцији и лечењу хипертензије. На основу епидемиолошких података примећено је да физичка активност утиче на смањење неколико фактора ризика који су повезани са кардиоваскуларном патологијом, међу којима је и висок крвни притисак. Светска Здравствена Организација (СЗО) је изнела препоруку да редовна физичка активност треба да представља „прву линију“ у превенцији и лечењу прехипертензивних (SP=120-139 mmHg и/или DP=80-89 mm Hg), као и терапији хипертензивних пацијената првог (SP=140-159 mm Hg и/или DP=80-99 mm Hg) или другог степена (SP ≥ 160 mm Hg и/или DP ≥ 100 mm Hg).

2.5. Значај и циљ истраживања

Значај истраживања се огледа у потенцијалним новим сазнањима о утицају физичке активности на вредности крвног притиска, који би укључили испитивање ефекте различитих модалитета физичке активности у нормотензивним и хипертензивним условима, као и молекулске механизме који су посредују у насталим променама.

Циљ ове студије би био да испита утицај физичке активности на вредност крвног притиска нормотензивних и хипертензивних пацова. У складу са овим општим циљем постављени су и следећи специфични циљеви:

1. Компарација ефеката различитих модалитета вежбања на функцију миокарда и коронарну циркулацију нормотензивних и хипертензивних пацова.
2. Испитати утицај различитих модалитета физичке активности на динамику редокс равнотеже у условима нормотензије и хипертензије мерењем вредности следећих маркера: индекса липидне пероксидације (TBARS), азот монооксида - NO (у облику нитрита), супероксид анион радикала (O_2^-), водоник пероксида (H_2O_2), каталазе (CAT), супероксид-дизмутазе (SOD) и редукованог глутатиона (GSH).
3. Стандардним хистолошким методама утврдити и упоредити оштећења скелетног мишића, аорте и миокарда настала након излагања пацова различитим модалитетима физичке активности.

2.6. Веза истраживања са досадашњим истраживањима

Прецизни механизми којим физичка активност спречава раст и редукује вредност већ високог крвног притиска су још увек недовољно истражени. Ипак, сматра се да акутни одговор организма на вежбање подразумева повећање систолног и смањење дијастолног притиска, да би у часовима након физичке активности дошло до редукације вредности како систолног, тако и дијастолног притиска. Снижење крвног притиска након физичке активности настаје као последица редукације нивоа адреналина, аденозина, ендотелина и ангиотензина II, што сумарно супримира активност симпатичког нервног система и смањује периферни васкуларни отпор који настаје као потреба да се у мишићима повећа перфузија. Поред тога, физичко оптерећење стимулише производњу азот-монооксида (NO) који такође посредује у хипотензивном ефекту.

Међутим, искуство и многобројна истраживања указују на то да нису сви модалитети физичке активности подједнако учинковити у остваривању кардиопротективних ефеката. Досадашње експерименталне студије које су проучавале ову проблематику су добиле контроверзне резултате. Наиме, док поједина истраживања показују позитиван ефекат, друга пак истичу да физички напор било којих карактеристика не мења вредности крвног притиска. Такође, поједине студије препоручују аеробну физичку активност умереног интензитета (енгл. *moderate-intensity training*, MIT), међутим последњих година све је већи број студија које испитују утицај интервалног тренинга високог интензитета (енгл. *high-intensity interval training*, НИТ) код ових пацијената. Резултати студија које су се бавиле испитивањем бенефита ова два модалитета физичке активности на кардиоваскуларни систем су контроверзна, а механизми недовољно испитани.

Због свих наведених чињеница, сматрамо да је од интереса испитати и упоредити утицај различитих модалитета физичке активности на кардиоваскуларни систем пацова у условима хипертензије и нормотензије.

2.7. Методе истраживања

2.7.1. Врста студије

Експериментална студија на животињама и анималном материјалу *in vivo* и *ex vivo*.

2.7.2. Популација која се истражује

Планирано је да истраживање обухвати 60 пацова, мушког пола, старости 6 недеља, просечне телесне масе око 200 грама. Експерименталне животиње ће бити чуване у строго контролисаним условима (температура 25°C, циклус светлости:тама 12:12 часова), док ће вода и храна бити доступна у довољној количини да би могле да их узимају према потреби (*ad libitum*).

2.7.3. Узорковање

Животиње би се на основу присуства хипертензије груписале у две (2) експерименталне групе, при чему би свака група била подељена на три подгрупе (по 10 животиња у свакој подгрупи):

1. Група нормотензивних пацова (n=30)
 - А. Контролна подгрупа нормотензивних пацова (седентерни пацови);
 - Б. Подгрупа нормотензивних пацова који ће бити подвргнути МИТ тренажном процесу;
 - В. Подгрупа нормотензивних пацова који ће бити подвргнути НИТ тренажном процесу.
2. Група спонтано хипертензивних (SHR) пацова (n=30)
 - А. Контролна подгрупа SHR пацова (седентерни пацови);
 - Б. Подгрупа SHR пацова који ће бити подвргнути МИТ тренажном процесу;
 - В. Подгрупа SHR пацова који ће бити подвргнути НИТ тренажном процесу.

Физичка активност ће се спровести на тредмилу за пацове, без обзира на модалитет физичке активности, прве недеље би сви пацови који подлежу физичкој активности били подвргнути адаптацији на трчање која обухвата трчање брзином од 8m/min 30 минута, једном дневно, пет дана у недељи. Након тог периода подгрупе пацова који би били подвргнути МИТ тренажном процесу (1Б, 2Б) би наредне четири недеље трчали 60 минута дневно при чему би се постепено повећавала брзина (10-13m/min) да би последње недеље пацови трчали брзином од 15m/min. За разлику од њих група пацова који би били подвргнути НИТ тренажном процесу (1В, 2В) би друге недеље трчала интензитетом од 45m/min 30 секунди, при чему би се након одмора од 3 минута овај поступак понављао у још четири циклуса. Током наредне три недеље би се постепено повећавала и брзина, али и дужина трајања трчања да би последње недеље пацови трчали брзином од 55m/min у трајању од 90 секунди у пет циклуса (14-16).

Након хроничних третмана животиње ће се жртвовати, а изолована срца пацова ће бити перфундована методом ретроградне перфузије по *Langendorff*-у (*Langendorff apparatus, Experimetria Ltd, 1062 Budapest, Hungary*).

2.7.4. Варијабле

Крвни притисак би се континуирано пратио методом репне плетизмографије почевши од почетка прве до краја пете недеље експерименталног протокола.

Жртвованим животињама би се изоловало срце и перфундовало према модификованој техници изолованог ретроградно перфундованог срца по *Langendorff*-у. Након успостављања стабилног срчаног рада, уклањањем леве преткоморе и прокидањем

митралне валвуле омогућило би се убацивање сензора (*transducer BS4 73-0184, Experimetria Ltd, Budapest, Hungary*) у леву комору ради директног и континуираног праћења параметара функције леве коморе:

1. $dp/dt \max$ - максимална стопа промене притиска у левој комори,
2. $dp/dt \min$ - минимална стопа промене притиска у левој комори,
3. SLVP - систолни притисак леве коморе,
4. DLVP - дијастолни притисак леве коморе,
5. HR - срчана фреквенца

Вредност коронарног протока (CF) би се одређивала флоуметријски.

Функција миокарда и коронарна ауторегулација ће се испитивати при промени перфузионог притиска, почев од притиска од 60 cmH_2O , затим 80 cmH_2O , 100 cmH_2O , 120 cmH_2O и на крају 40 cmH_2O , док ће се за сваку вредност перфузионог притиска регистровати параметри функције леве коморе и одређивати коронарни проток.

У прикупљеним узорцима коронарног венског ефлуента, за сваку вредност перфузионог притиска, спектрофотометријским методама ће се одређивати следећи биомаркери оксидативног стреса:

1. индекс липидне пероксидације - мерен као TBARS
2. азот моноксид у форми нитрита (NO_2^-)
3. супероксид анјон радикал (O_2^-)
4. водоник пероксид (H_2O_2)

Поред тога, приликом жртвовања животиња прикупили би се узорци крви за процену системског редокс статуса, путем мерења нивоа про-оксидационих параметара (TBARS-а, NO_2^- , O_2^- , H_2O_2) и компоненти антиоксидационог система заштите: каталаза (CAT), супероксид дисмутаза (SOD) и редуковани глутатион (GSH). Такође, животињама би се изоловала аорта и скелетни мишић, који би се уз срце користили за хистолошку анализу. Скелетни мишић, срце и аорта ће се фиксирати у 4% пуферизованом формалину и уграђују у парафинске калупе. Потом се секу на пресеке дебљине 4 микрона и боје хематоксилином/еозином и методом по *Masson*-у.

При експерименталном раду биће поштовани прописи о добробити лабораторијских животиња и правилник за рад са експерименталним животињама

Факултета медицинских наука Универзитета у Крагујевцу, који су усклађени са европском директивом у овој области.

2.7.5. Снага студије и величина узорка

Прорачун укупног узорка је заснован на резултатима претходно објављене студије. За прорачун је коришћен Т-тест за везани узорак, двоструко, уз претпоставку алфа грешке од 0.05 и снаге студије 0.8 (бета грешка 0.2) и уз коришћење одговарајућег рачунарског програма. Узимањем у обзир резултате наведене студије, укупан број експерименталних животиња је прорачунат на 60 (три групе, свака подељена на три подгрупе, по 10 животиња у свакој подгрупи). Имајући у виду могућност искључења неких експерименталних животиња из завршне анализе, укупан студијски узорак је утврђен на 66 експерименталних животиња.

2.7.6. Статистичка обрада података

Статистичка обрада експерименталних података ће се обављати на следећи начин:

- 1) За опис параметара од значаја, у зависности од њихове природе, користиће се: фреквенција, проценти, узорачка средња вредност, узорачка медијана, узорачка стандардна девијација, ранг и 95% интервали поверења.
- 2) За испитивање нормалности расподеле користиће се тестови *Kolmogorov Smirnov* и *Shapiro Wilk*, и графици: хистограм и *normal QQ plot*.
- 3) За тестирање разлика између параметара, у зависности од њихове природе, користиће се Студентов т-тест, *Mann-Whitney* тест, Фишеров тест апсолутне вероватноће, једнофакторска или двофакторска анализа варијансе. Приликом тестирања разлика између параметара, у случају постојања више подгрупа, користиће се *Bonferroni* тест.
- 4) Статистичка обрада података ће се радити у статистичком пакету *SPSS 18.0 for Windows*.

2.8. Очекивани резултати докторске дисертације

Најинтензивније промене се очекују у редокс статусу, као једном од иницијалних механизма, чиме би се омогућило расветљавање једног од потенцијалних механизма

којима физичка активност делује на кардиоваскуларни систем како у нормотензивним тако и хипертензивним условима, чиме би се поставили незаобилазни и важни темељи будућих експерименталних и клиничких студија.

2.9. Оквирни садржај докторске дисертације

С обзиром да су ефекти ова два модалитета тренинга готово у потпуности неистражени, ово би била једна од ретких студија чији би резултати могли да послуже бољем разумевању нефармаколошке контроле функције кардиоваскуларног система. Ови налази могу да имају несумњиву клиничку импликацију у смислу увођења физичке активности у терапијски алгоритам хипертензије, што би смањило трошкове и олакшало лечење ове многобројне популације болесника.

3. Предлог ментора

За ментора ове докторске дисертације се предлаже доц. др Владимир Живковић, доцент Факултета медицинских наука Универзитета у Крагујевцу за ужу научну област Физиологија.

Доц. др Владимир Живковић поседује стручне и научне компетенције које су комплементарне са предметом истраживања и испуњава услове за ментора докторских дисертација у складу са стандардом 9. за акредитацију студијских програма докторских академских студија на високошколским установама.

3.1 Компетентност ментора

Радови Доц. др Владимира Живковића који су у вези са темом докторске дисертације:

1. Nikolic T, **Zivkovic V**, Srejovic I, Stojic I, Jeremic N, Jeremic J, Radonjic K, Stankovic S, Obrenovic R, Djuric D, Jakovljevic V. Effects of atorvastatin and simvastatin on oxidative stress in diet-induced hyperhomocysteinemia in Wistar albino rats: a comparative study. *Mol Cell Biochem.* 2017; doi: 10.1007/s11010-017-3099-5.
2. Stojanovic M, **Zivkovic V**, Srejovic I, Jakovljevic V, Jeremic N, Djuric D. The role of hydrogen sulfide in homocysteine-induced cardiodynamic effects and oxidative stress markers in the isolated rat heart. *Physiol Int.* 2016; 103(4): 428-438.

3. Ristic P, Srejovic I, Nikolic T, Stojic I, Ristic D, **Zivkovic V**, Jakovljevic VL. The effects of zofenopril on cardiac function and pro-oxidative parameters in the streptozotocin-induced diabetic rat heart. *Mol Cell Biochem.* 2017; 426(1-2): 183-193.
4. Nikolic TR, **Zivkovic VI**, Srejovic IM, Radovanovic DS, Jeremic NS, Jevdjevic MD, Djuric DM, Jakovljevic VL. Acute effects of nandrolone decanoate on cardiodynamic parameters in isolated rat heart. *Can J Physiol Pharmacol.* 2016; 94(10): 1048-1057.
5. Stanojevic D, Jakovljevic V, Barudzic N, **Zivkovic V**, Srejovic I, Parezanovic Ilic K, Cubrilo D, Ahmetovic Z, Peric D, Rosic M, Radovanovic D, Djordjevic D. Overtraining does not induce oxidative stress and inflammation in blood and heart of rats. *Physiol Res.* 2016; 65(1): 81-90.

4. Научна област дисертације

Медицина. Изборно подручје: Експериментална и примењена физиологија са спортском медицином

5. Научна област чланова комисије

1. Проф. др Гвозден Росић, редовни професор Факултета медицинских наука Универзитета у Крагујевцу за ужу научну област *Физиологија*, председник;
2. Проф. др Драган Радовановић, редовни професор Факултета физичке културе и спорта Универзитета у Нишу за ужу научну област *Физиологија*, члан;
3. Доц. др Иван Срејовић, доцент Факултета медицинских наука Универзитета у Крагујевцу за ужу научну област *Физиологија*, члан;

ЗАКЉУЧАК И ПРЕДЛОГ КОМИСИЈЕ

На основу досадашњег научно-истраживачког рада кандидат, Биљана Јаковљевић, испуњава све услове за одобрење теме и израду докторске дисертације. Предложена тема је научно оправдана и оригинална, дизајн истраживања прецизно постављен и дефинисан, а научна методологија јасна и прецизна.

Комисија предлаже Научно-наставном већу Факултета медицинских наука Универзитета у Крагујевцу да прихвати тему докторске дисертације кандидата Биљане Јаковљевић, под називом “Утицај различитих модалитета физичке активности на крвни притисак и функцију миокарда пацова“ и одобри њену израду.

ЧЛАНОВИ КОМИСИЈЕ

Проф. др Гвозден Росић, редовни професор Факултета медицинских наука Универзитета у Крагујевцу за ужу научну област *Физиологија*, председник

Проф. др Драган Радовановић, редовни професор Факултета спорта и физичког васпитања Универзитета у Нишу за ужу научну област *Физиологија*, члан

Доц. др Иван Срејовић, доцент Факултета медицинских наука Универзитета у Крагујевцу за ужу научну област *Физиологија*, члан

У Крагујевцу, 11.12.2017. године