

## 1. Одлука Изборног већа

Одлуком Изборног већа Медицинског факултета Универзитета у Крагујевцу, број 01-8533/3-4, од 17. 11. 2011. године, именовани су чланови комисије за оцену научне заснованости теме докторске дисертације кандидата мр мед сци Мирослава Нешића, под називом:

### „Утицај хране богате незасићеним масним киселинама на оксидативни стрес и инфламаторни одговор спортиста“

Чланови комисије су:

1. **Проф. др Драган Миловановић**, председник, редовни професор Медицинског факултета Универзитета у Крагујевцу за ужу научну област Фармакологија и токсикологија,
2. **Проф. др Владимир Јаковљевић**, члан, ванредни професор Медицинског факултета Универзитета у Крагујевцу за ужу научну област Физиологија,
3. **ВНС др сци биол Весна Вучић**, члан, виши научни сарадник Института за медицинска истраживања у Београду за ужу научну област Физиологија и биохемија.

## 2. Извештај комисије о подобности теме

### 2.1. Кратка биографија кандидата

Мирослав Нешић је рођен 06.05.1960. године у Бадњевцу. Факултет физичке културе у Приштини завршио је 2002. године, а магистарске студије из спортске медицине на Медицинском факултету у Крагујевцу 2007. године. Школске 2007/2008 уписао је докторске године на Медицинском факултету у Крагујевцу, смер Експериментална и примењена физиологија са спортском медицином.

Стално је запослен у спортском центру „Младост“ на месту референта у спорту. Оснивач је прве школе фудбала у Крагујевцу „ФК Славија“. Радио је као тренер и функционер у више фудбалских клубова. Био је секретар Универзитетског спортског савеза Крагујевца.

Говори руски и енглески језик.

### 2.2. Наслов, предмет и хипотеза докторске дисертације

**Наслов:** „Утицај хране богате незасићеним масним киселинама на оксидативни стрес и инфламаторни одговор спортиста“

**Предмет:** Испитивање ефеката различитих режима исхране у смислу различитог удела полинезасићених масних киселина (n-3 и n-6 PUFA (*Polyunsaturated Fatty Acids*)) у исхрани

на вредности морфолошких и функционалних параметара, као и проинфламаторних медијатора и ниво оксидативног стреса, у миру и након максималног теста оптерећења.

**Хипотеза:** Основна хипотеза студије је да исхрана богата полинезасићеним масним киселинама (еикосапентаноичном и докозахексенском) смањује ниво физичком активношћу индукованог оксидативног стреса, смањује продукцију проинфламаторних цитокина, повећава искористљивост кисеоника током напора и смањује % масти.

### 2.3. Подобност кандидата

Кандидату је објављен један рад у целини за штампу у часопису са рецензијом, у коме је први аутор, чиме је испунио услов за пријаву докторске тезе:

**Nešić M, Milošević O i Čubrilo D.** Ankle injuries in soccer players: a focus on age and level of competition. *Serb J Exp Clin Res* 2010; 11(4): 157-162. **M52=1.5 бода**

### 2.4. Преглед стања у подручју истраживања

Посебна пажња најновијих истраживања се усмерава на проналажење и разумевање механизма инфламаторног одговора и оксидативног стреса и њиховог међусобног дејства. Данас је познато да инфламаторни одговор преставља кључну фигуру у развоју гојазности, односно липотоксичности, при чему је масна ћелија адипозног ткива примарно место генерисања медијатора запаљенске реакције и последичног ширења тихе инфламације (silent inflammation) на друге органе (срце, мишићи, панкреас). Праћење и евентуална модулација тихе инфламације, евидентно је отежана због непостојања јасних клиничких знакова. Показано је да однос две масне киселине у крви, арахидонске киселине и еикосапентаеноичне киселине (AA/EPA) представља врло селективан маркер тихе инфламације. Показано је да правилним дозирањем омега-3 масних киселина, еикосапентаеноична (EPA, 20:5 n-3) и докозахексаенска киселина (DHA, 22:6 n-3) могу бити значајан чинилац анти-инфламаторног одговора, делујући у смислу инхибиције активности ензима делта-5 десатуразе, при чему се смањује продукција арахидонске киселине (AA), као и имплементацијом у фосфолипиде ћелијских мембрана директно делујући на смањење ослобађања арахидонске киселине као прекурсора проинфламаторних еикосаноида. Подаци праћења ефеката суплементације полинезасићених масних киселина у смислу унапређења аеробног капацитета спортиста и модификације телесног састава су контроверзни. У раду Walser-а и сарадника показано је значајно повећање ударног волумена, минутног волумена, као и смањење периферног васкуларног отпора и средњег артеријског притиска након суплементације са 5 грама омега-3 масних киселина непосредно пред физичку активност. Инфламаторни одговор у масним ћелијама адипозног ткива, самим тим и гојазност, настао прекомерном продукцијом арахидонске киселине, може бити редукован високим дозама омега-3 полинезасићених масних киселина.

Цитокини су група протеина који бивају продуковани од стране многих ћелија/ткива као одговор на стрес. Обзиром да физичка активност доводи до значајног нарушавања ћелијске хомеостазе, запажено је да вежбање доводи до повећане продукције неколико цитокина, укључујући IL-6 и TNF- $\alpha$ . Нивои IL-6 током и након вежбања могу бити и до 100 пута већи од нивоа у миру; с друге стране промене нивоа TNF- $\alpha$  нису толико упадљиве. Претходно спроведене студије доследно показују повећане нивое IL-6 у крви

након вежбања, међутим динамика продукције IL-6 и његово појављивање у циркулацији зависи од типа, интензитета и обима вежбања, регрутоване мишићне масе, утренираности испитаника итд. Показано је да су након трчања и вожње бицикле нивои IL-6 били највиши непосредно након престанка вежбања а током опоравка нивои су се смањивали, док се након вежбања које укључује ексцентричне контракције и последично доводи до мишићних оштећења нивои IL-6 нису значајно мењали дуго времена након престанка вежбања.

## **2.5. Значај и циљ истраживања**

### *Значај студије*

Постојање евидентног утицаја физичког оптерећења на параметре инфламације и оксидационог стреса, пружа нам реалну могућност да претпоставимо да између њих постоји заједничко деловање, те би испитивање ефекта ове интеракције у физичком оптерећењу код младих спортиста, обзиром на оскудне литературне податке, био несумњиво значајан.

### *Циљ и хипотезе студије*

Циљ студије би био да испита ефекте хране богате полинезасићеним масним киселинама на оксидативни стрес и инфламаторни одговор спортиста.

Основна хипотеза студије је да исхрана богата омега-3 полинезасићеним масним киселинама (еикосапентаеноичном и докозахексаенском) смањује ниво физичком активношћу индукованог оксидативног стреса, смањује продукцију проинфламаторних цитокина, повећава искористљивост кисеоника током напора и смањује % масти.

## **2.6. Веза истраживања са досадашњим истраживањима**

Подаци праћења ефеката суплементације полинезасићених масних киселина у смислу унапређења аеробног капацитета спортиста и модификације телесног састава су контроверзни. У раду Walser-а и сарадника показано је значајно повећање ударног волумена, минутног волумена, као и смањење периферног васкуларног отпора и средњег артеријског притиска након суплементације са 5 грама омега-3 масних киселина непосредно пред физичку активност. Инфламаторни одговор у масним ћелијама адипозног ткива, самим тим и гојазност, настао прекомерном продукцијом арахидонске киселине, може бити редукован високим дозама омега-3 полинезасићених масних киселина. С друге стране, претходно спроведене студије доследно показују повећане нивое IL-6 у крви након вежбања, међутим динамика продукције IL-6 и његово појављивање у циркулацији зависи од типа, интензитета и обима вежбања, регрутоване мишићне масе, утренираности испитаника итд. Показано је да су након трчања и вожње бицикле нивои IL-6 били највиши непосредно након престанка вежбања а током опоравка нивои су се смањивали, док се након вежбања које укључује ексцентричне контракције и последично доводи до мишићних оштећења нивои IL-6 нису значајно мењали дуго времена након престанка вежбања. Такође, праћење параметара оксидационог стреса у физичком оптерећењу је показала изразите специфичности у базалним вредностима код различитих спортова, као и различиту динамику која је специфична за сваки спорт понаособ.

## 2.7. Методе истраживања

### *Врста студије*

Студија припада рандомизираним експерименталним студијама.

### *Испитаници*

Истраживање би обухватило 75 спортиста (фудбалера). Сви спортисти налазе се у распону од 18-19 година са спортским стажом од минимално 5 година, са нормалним индексом телесне масе, апсолутно здрави без обољења у анамнези, без посебних навика у исхрани, без употребе било каквих лекова и суплемената. Млади спортисти су укључени у редовне спортске тренинге фудбала, 12 часова недељно. Испитаници би били регрутовани из селекција омладинске фудбалске школе Крагујевац, а сврставање у експерименталне и контролну групу било би вршено методом случајног избора.

Експериментални протокол је одобрен од стране Етичког одбора Медицинског факултета Универзитета у Крагујевцу.

### *Материјал и методе*

У узорцима венске крви били би одређивани следећи параметри: параметри оксидативног стреса (супероксид анјон радикал ( $O_2^-$ ), водоник пероксид ( $H_2O_2$ ), азот моноксид (NO), индекс липидне пероксидације (TBARS)), активност ензима заштите од оксидационих оштећења (супероксид дисмутаза (SOD), каталаза (CAT), глутатион пероксидаза (GSHPx) и глутатион редуктаза (GR)), нивои цитокина (IL-6 и TNF- $\alpha$ ), као и масних киселина фосфолипида плазме (Арахидонска киселина (AA), Еикосапентаеноична киселина (EPA)). Нивои параметара оксидационог стреса и компоненти антиоксидационе заштите ће бити одређивани спектрофотометријски, ниво цитокина ELISA методом, док ће се ниво полинезасићених масних киселина одређивати гасном хроматографијом.

Узорци венске крви ће бити узимани у вакумске епрувете са цитратом, а основна обрада узорака састојаће се од одвајања еритроцита од плазме центрифугирањем (10 мин на 5000 rpm, 4°C). Исталожени еритроцити се ресуспендују и три пута исперу физиолошким раствором уз центрифугирање 10 минута на 5000 rpm, а затим замрзну на -20°C до анализе. Одређивање концентрације наведених биохемијских параметара вршиће се спектрофотометријски.

Максимална потрошња кисеоника ( $VO_{2max}$ ) биће мерена директним методом уз помоћ апарата *Fitmate Pro* (Cosmed, Italy) током континуираног теста прогресивно растућег оптерећења на покретној траци. Процена телесног састава биће урађена методом биоимпеданце на апарату *In Body 720* (Biospace, Korea).

## 2.8. Очекивани резултати докторске дисертације

Очекују се резултати који ће показати промене нивоа масних киселина индуковане дуготрајном физичком активношћу младих спортиста, као и позитивне ефекте омега-3 полинезасићених масних киселина и смањење нивоа инфламаторног одговора индукованог

напором, а самим тим и позитивне ефекте на нивоу развоја морфолошких, функционалних способности и контролу редокс равнотеже младих спортиста.

## **2.9. Оквирни садржај дисертације**

Постојање евидентног утицаја физичког оптерећења на параметре инфламације и оксидационог стерса, пружа нам реалну могућност да претпоставимо да између њих постоји заједничко деловање, те би испитивање ефекта ове интеракције у физичком оптерећењу код младих спортиста, обзиром на оскудне литературне податке, био несумњиво значајан.

## **2.10. Предлог ментора**

За ментора се предлаже **Проф. др Владимир Љ. Јаковљевић**, ванредни професор Медицинског факултета Универзитета у Крагујевцу за ужу научну област Физиологија.

## **2.11. Научна област дисертације**

Медицина. Ужа област: Физиологија.

## **2.12. Научна област чланова комисије**

1. **Проф. др Драган Миловановић**, председник, редовни професор Медицинског факултета Универзитета у Крагујевцу за ужу научну област Фармакологија и токсикологија,
2. **Проф. др Владимир Јаковљевић**, члан, ванредни професор Медицинског факултета Универзитета у Крагујевцу за ужу научну област Физиологија,
3. **ВНС др сци биол Весна Вучић**, члан, виши научни сарадник Института за медицинска истраживања у Београду за ужу научну област Физиологија.

## **Закључак и предлог комисије**

1. На основу досадашњег научно истраживачког рада и публикованих радова, кандидат мр мед сци Мирослав Нешић испуњава све услове за одобрење теме и израду докторске дисертације.
2. Предложена тема је научно оправдана, дизајн истраживања је прецизно постављен и дефинисан, методологија је јасна. Ради се о оригиналном научном делу које има за циљ развој новог приступа изучавању могуће заштите од потенцијалног оштећења изазваног тзв."тихом инфламацијом" у физичком оптерећењу
3. Комисија сматра да ће предложена докторска теза мр мед сци Мирослава Нешића бити од великог научног и практичног значаја, да се прецизно одреди интеракција патофизиолошких механизма у интензивном физичком оптерећењу. Посебну оригиналност овом истраживању доноси анализа оксидативног статуса као важне карике у објашњењу потенцијалних резултата.
4. Комисија предлаже Изборном већу Медицинског факултета у Крагујевцу да прихвати пријаву теме докторске дисертације кандидата мр мед сци Мирослава Нешића, са малом корекцијом наслова у: „**Утицај хране богате омега-3 полинезасићеним масним киселинама на оксидативни стрес и инфламаторни одговор спортиста**“, како би се тема истраживања прецизније дефинисала и одобри њену израду.

**Проф. др Драган Миловановић**, председник, редовни професор Медицинског факултета Универзитета у Крагујевцу за ужу научну област Фармакологија и токсикологија.

---

**Проф. др Владимир Јаковљевић**, члан, ванредни професор Медицинског факултета Универзитета у Крагујевцу за ужу научну област Физиологија.

---

**ВНС др сци биол Весна Вучић**, члан, виши научни сарадник Института за медицинска истраживања у Београду за ужу научну област Физиологија и биохемија.

---

У Крагујевцу, 28. 11. 2011.