

УНИВЕРЗИТЕТ У КРАГУЈЕВЦУ
ФАКУЛТЕТ МЕДИЦИНСКИХ НАУКА
НАСТАВНО-НАУЧНОМ ВЕЋУ

ПРИМЉЕНО:		28.03.19	
05	3690/1		

1. Одлука Већа за медицинске науке Универзитета у Крагујевцу

Одлуком Већа за медицинске науке Универзитета у Крагујевцу, број IV-03-106/23 од 19.02.2019. године, именовани су чланови комисије за оцену научне заснованости теме докторске дисертације кандидата **Предрага Крстића** под називом:

“Утицај суплементације омега-3 и омега-6 масним киселинама на маснокиселински профил плазме, оксидативни стрес и инфламаторни одговор код пацијенткиња на адјувантној терапији карцинома дојке“

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

1. **Проф. др Срђан Нинковић**, ванредни професор Факултета медицинских наука Универзитета у Крагујевцу за ужу научну област *Хирургија*, председник;
2. **Проф. др Драгана Стаматовић**, редовни професор Медицинског факултета Војномедицинске академије Универзитета одбране у Београду за ужу научну област *Интерна медицина*, члан;
3. **НС Весна Вучић**, научни саветник Института за медицинска истраживања Универзитета у Београду за ужу научну област *Физиологија и биохемија*, члан;
4. **Проф. др Небојша Анђелковић**, ванредни професор Факултета медицинских наука Универзитета у Крагујевцу за ужу научну област *Интерна медицина*, члан;
5. **Проф. др Нела Ђоновић**, редовни професор Факултета медицинских наука Универзитета у Крагујевцу за ужу научну област *Хигијена и екологија*, члан.

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

ИЗВЕШТАЈ

Кандидат **Предраг Крстић** 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

Предраг Крстић је рођен 06.08.1971. Медицински факултет Универзитета у Београду завршио је 1997. године, специјализацију из интерне медицине је завршио 2005. године, а субспецијалистичке студије из хематологије 2011. године. Од 2006. године врши функцију начелника Кабинета за хематологију, од 2011. је именован за начелника Кабинета за хематологију и дневне болнице за хемиотерапију, а од 2016. године је начелник Групе Кабинета за унутрашње болести специјалистичке поликлинике Војномедицинске академије. Члан је Српског лекарског друштва, Удружења хематолога Србије и Лекарске коморе Србије.

2.2. Наслов, предмет и хипотезе докторске тезе

Наслов: “Утицај суплементације омега-3 и омега-6 масним киселинама на маснокиселински профил плазме, оксидативни стрес и инфламаторни одговор код пацијенткиња на адјувантној терапији карцинома дојке“

Предмет: Испитивање ефеката примене адјувантне терапије код пацијенткиња лечених од карцинома дојке на маснокиселински профил плазме, оксидативни стрес и инфламаторни одговор.

Хипотезе:

- Хронична примена омега-3 и омега-6 масних киселина је повезана са променом нутритивног статуса код пацијенткиња са карциномом дојке у односу на плацебо;
- Хронична примена омега-3 и омега-6 масних киселина је повезана са променом маснокиселинског профила плазме код пацијенткиња са карциномом дојке у односу на плацебо;

- Хронична примена омега-3 и омега-6 масних киселина утиче на редокс равнотежу и ниво про- и анти-инфламаторних цитокина, код пацијенткиња са карциномом дојке у односу на плацебо.

2.3. Испуњеност услова за пријаву теме докторске дисертације

Кандидат, Предраг Крстић, је објавио рад у целини у часопису категорије M51, у коме је први аутор, чиме је стекао услов за пријаву теме докторске дисертације.

1. **Krstic P**, Elez M, Zivanovic-Todoric B, Ostojic G, Balint B, Malesevic M, Stamatovic D. Development of therapy approach in patient with chronic granulocyt leukemia: Case report. Ser J Clin Exp Res. 2018; doi:10.2478/sjcer-2018-0074. **M51**

2.4. Преглед стања у подручју истраживања

Према литературним подацима, исхрана још у раном детињству девојчица може утицати на ризик од карцинома дојке у одраслом добу. То значи да латентни период потребан за развој малигнитета траје деценијама пре него што карцином постане клинички значајан. Савремено доба доноси и значајне промене навика у исхрани што значајно повећава ризик за повећану инциденцу карцинома дојке. Традиционалан начин исхране европских земаља заснива се на мањем уносу масти и предоминантно угљенохидратној исхрани. Исхрана богата влакнима повећава екскрецију естрогена и његових метаболита смањујући на тај начин ниво циркулишућег естрогена. Поред тога, битну улогу имају енергетски унос, физичка активност, примена антиоксиданаса, фитоестрогена и незасићених масних киселина, који се повезују са ниским ризиком за настанак карцинома дојке. Повећањем дијетарног уноса омега-3 полинезасићених масних киселина (PUFA) из масне морске рибе или рибљег уља, инхибира се продукција проинфламаторних еикозаноида и цитокина (IL-1, IL-6 и TNF-а), док се повећава производња антиинфламаторних еикозаноида.

Међутим, литературни подаци о ефектима PUFA на снижење нивоа инфламаторних медијатора нису конзистентни. У појединим студијама је праћен ефекат суплементације оболелих од канцера уљем жутог ноћурка, јер је богато анти-инфламаторном гама-линоленском киселином (GLA), из фамилије омега-6 PUFA. Иако су прелиминарни

результати били обећавајући, број студија и подаци о корисним ефектима овог уља су ограничени.

2.5. Значај и циљ истраживања

Имајући у виду значај карцинома дојке у погледу броја оболелих, као и у исходу лечења, истраживања која доносе нова сазнања и могућности лечења и побољшања исхода лечења су од великог значаја. Значај овог истраживања се огледа у испитивању могућности и ефеката суплементације масним киселинама на метаболичке промене које могу да буду поремећене применом адјувантне терапије.

Општи циљ истраживања подразумева испитивање потенцијалне улоге хроничне примене омега-3 и омега-6 масних киселина на промену нутритивног статуса, маснокиселинског профила, редокс статуса и инфламатрног одговора, код пацијенткиња током адјувантне терапије карцинома дојке у односу на плацебо. На основу општег циља формиран су следећи специфични циљеви:

1. Испитати утицај исхране обogaћене омега-3 и омега-6 масним киселинама на промену нутритивног статуса постменопаузалних жена у току адјувантне хемио- или хормоно-терапије инхибиторима ароматазе, пре почетка и три месеца након суплементације масним киселинама;
2. Испитати утицај исхране обogaћене омега-3 и омега-6 масним киселинама на промену биохемијских параметера испитаница, пре почетка и три месеца након суплементације масним киселинама као што су вредности укупног холестерола, LDL и HDL холестерола, триглицерида, гликемије, гликозилованог хемоглобина (HbA1c), укупног билирубина, аспаратг и аминокиселина трансфераза (AST, ALT), гама-GT, укупних протеина, урее, креатинина, седиментације еритроцита, C-реактивног протеина (CRP), фибриногена.
3. Испитати утицај исхране обogaћене омега-3 и омега-6 масним киселинама на маснокиселински статус плазме испитаница са карциномом дојке у односу на плацебо;
4. Испитати утицај исхране обogaћене омега-3 и омега-6 масним киселинама на маркере оксидационог стреса (супероксид анјон радикал (O₂⁻), водоник пероксид (H₂O₂), нитрити (NO₂⁻) и индекс липидне пероксидације (TBARS),

као и на активност ензима антиоксидативне заштите (каталаза (CAT), супероксид дисмутаза (SOD)) и на ниво редукованог глутатиона (GSH), код испитаница са карциномом дојке у односу на плацебо.

5. Испитати утицај исхране обогачене омега-3 и омега-6 масним киселинама на ниво про- и анти-инфламаторних цитокина, испитаница са карциномом дојке у односу на плацебо.

2.6. Веза истраживања са досадашњим истраживањима

Улога и метаболизам липида код пацијенткиња са карциномом дојке је још увек контроверзна. Нека истраживања су показала да постоје промене маснокиселинског (МК) профила у фосфолипидима плазме код особа оболелих од канцера у односу на здраве особе. Штавише, код особа са карциномом дојке статус МК доведен је у везу са клиничким стадијумом и агресивношћу обољења, а праћењем оболелих је откривена повезаност статуса МК и одговора на хемотерапију. Посебно је смањење удела омега-3 PUFA и повећање удела арахидонске киселине (AA) у корелацији са агресивношћу карцинома дојке и неповољним одговором на терапију. Све то указује на могућност позитивног ефекта нутритивне интервенције антиинфламаторним PUFA на исход терапије код особа оболелих од канцера.

Међутим у литератури још увек не постоје прецизни резултати о ефектима хроничне примене омега-3 и омега-6 масних киселина на нутритивни статус и маснокиселински профил пацијената са карцином дојке као и на свеукупну прогресију болести код постменопаузалних жена.

2.7. Методе истраживања

2.7.1. Врста студије

Студија је дизајнирана је као двоструко слепа, рандомизирана, проспективна, плацебо контролисана клиничка студија.

2.7.2. Популација која се истражује

Студија ће обухватити постменопаузалне жене у току адјувантне хемотерапије или хормонотерапије инхибиторима ароматазе карцинома дојке, које ће у трајању од 3

месеца бити подвргнуте суплементацији дијететским суплементом на бази омега-3 и омега-6 масних киселина (2 гел капсуле која садрже по 500 mg *EPA+DHA* и 2 гел капсуле од по 117 mg *GLA*) или плацебом уз стандарни дијетални режим исхране.

Студија је одобрена од стране локалног институционалног Етичког одбора и обављаће се у складу са свим релевантним етичким принципима (Добра клиничка пракса и *ICH* смернице).

2.7.3. Узорковање

Узорковање испитаника ће бити спроведено искључиво уз писани, информисани и добровољни пристанак испитаника.

Укључујући критеријуми: добровољан писани пристанак пацијента, период постменопаузе, примена адјувантне хемиотерапије или адјувантне хормонотерапије инхибиторима ароматазе као прва линија или најмање 2 године по завршетку хемиотерапије. *Искључујући критеријуми:* метастатска болест, претходни мождани или срчани удар, присуство значајног неуролошког дефицита и поремећаја свести, деменција, присуство других малигних обољења, клиничка стања са лошом прогнозом, алергија на састојке дијететског препарата као и стања пацијента која би могла да утичу на пристајање и информисаност пацијента.

Поштујући искључујуће и укључујуће критеријуме у студији су планиране 4 групе испитаница:

1. Плацебо група испитаница у току адјувантне хемиотерапије карцинома дојке
2. Плацебо група испитаница у току адјувантне хормонотерапије инхибиторима ароматазе карцинома дојке
3. Група испитаница на исхрани обогаћеној омега-3 (*EPA + DHA*) и омега-6 масним киселинама (*GLA*) у току адјувантне хемиотерапије карцинома дојке, током три месеца,
4. Група испитаница на исхрани обогаћеној омега-3 (*EPA+DHA*) и омега-6 масним киселинама (*GLA*) у току адјувантне хемиотерапије инхибиторима ароматазе, током три месеца.

Групе се међусобно разликују само по обележју које је наведено у називу групе, док по свим осталим обележјима и критеријумима су сличне.

Студија подразумева проспективно праћење испитаница током 3 месеца током које ће се примењивати дијететски производ на бази омега-3 и омега-6 масних киселина. Примена наведеног суплемента подразумева примену 1000 mg EPA+DHA и 234 mg GLA дневно у трајању од три месеца, односно две групе пацијенткиња ће користити наведени производ.

2.7.4. Варијабле

Студија подразумева евалуацију пацијената у неколико концепата: процену дијетарног уноса и нутритивног статуса, одређивање статуса маснокиселинског профила плазме испитаница, маркера инфламације и оксидативног стреса пре почетка и након суплементације масним киселинама.

Процена дијетарног уноса и нутритивног статуса ће се спровести на почетку и након суплементације у трајању од три месеца од стране дијетотерапеута методом валидираних упитника специјализованих за процену нутритивног статуса (National Health and Nutrition Examination Survey (NHANES)). Резултати анкета ће се анализирати помоћу националних електронских база података о саставу намирница (9).

Анализа маснокиселинског профила укупних липида плазме гасно-течном хроматографијом на апарату Shimadzu 2014, Кјото, Јапан подразумева директну трансестерификацију, при чему ће маснокиселински профил укупних липида плазме бити одређиван по методи Glaser-a и сарадника (10). Статистичка анализа повезаности дијетарног уноса и биомаркера МК показаће да ли је садржај МК у плазми болесника у вези са дијетарним уносом. Резултати добијени за различите стадијуме канцера ће се упоредити да би се испитало да ли постоје сличности у метаболизму МК код различитог степена болести. Добијени резултати из плазме ће се статистички поредити са одговарајућим профилем плацебо особа пре почетка и три месеца након суплементације масним киселинама.

У прикупљеним узорцима крви пре почетка и три месеца од почетка третмана, биохемијским анализама крви пратиће се промена биохемијских маркера пре и после суплементације као што су вредности укупног холестерола, LDL и HDL холестерола, триглицерида, гликемије, HbA1c, укупног билирубина, AST, ALT, gamma-GT, укупних протеина, урее, креатинина, седиментације еритроцита, CRP, фибриногена. Из узорака

плазме ће се одређивати параметри оксидативног стреса: супероксид анјон радикал (O_2^-), водоник пероксид (H_2O_2), индекс липидне пероксидације (TBARS) и азот моноксид (NO), и из узорака лизираних еритроцита параметри антиоксидативне заштите (активности ензима каталазе – CAT и супероксид дисмутазе – SOD, као и ниво редукованог глутатиона - GSH) према претходно описаном протоколу (11).

Специфичним методама у узорцима крви пре почетка и након три месеца суплементације масним киселинама, одређиваће се концентрације маркера инфламације (IL-1, IL-6, IL-8, IL-10 и TNF- α).

2.7.5. Снага студије и величина узорка

Прорачун снаге студије је заснован на резултатима пилот студије *Hutchins-Wiese HL et al*, која је испитивала утицај тромесечне суплементације омега масним киселинама на ресорпцију коштаног ткива постменопаузалних жена на инхибиторима ароматазе, а на основу које је прорачунат минималан број испитаника на 26 по групи које ће бити поврнуте суплементацији уз 0.8 1- β снагу студије и стопу грешке од 5%. Контролне групе биће формиране у односу 1:1. Узимајући у обзир клинички ток болести и примењене терапије, постоји могућност промене броја испитаница по групи у завршној анализи. Прорачун је урађен у програму G*Power 3.1.

2.7.6. Статистичка обрада података

Сви резултати биће табеларно и графички представљени уз коришћење програма *GraphPad Prism 8*. За статистичку обраду резултата ће бити коришћен статистички програм *SPSS 22.0*. За опис параметара од значаја, у зависности од њихове природе, користиће се методе дескриптивне статистике (средња вредност, медијана, стандардна девијација, учесталост, апсолутни и релативни ризик, прорачун интерне конзистентности упитника (*Cronbach alfa*)). За поређење зависних варијабли у односу на групу и третман користиће се једнофакторска анализа варијансе за поновљена мерења (RM-ANOVA) уз одговарајући *post-hoc* тест, а случају категоријских варијабли χ^2 тест или Z тест, Pearson-ов или Spearman-ов коефицијент корелације, једнофакторска и мултифакторска регресиона анализа.

2.8. Очекивани резултати докторске дисертације

Резултати ове проспективне клиничке студије би требало да пруже прецизна сазнања о хроничном ефекту примене омега-3 и омега-6 масних киселина на нутритивни статус и маснокиселински профил испитаница са карциномом дојке, као и да пруже увид у ефекте примене ових дијететских суплеманата на промену редокс равнотеже и ниво про и анти инфламаторних цитокина као важних чинилаца у настанку и прогресији малигних болести.

2.9. Оквирни садржај докторске дисертације

Планирано клиничко истраживање би дало неке одговоре о потенцијалним механизмима деловања дијететских суплемената код пацијенткиња са карциномом дојке анализом маркера редокс статуса и маснокиселинског профила испитаница.

3. Предлог ментора

За коменторе ове докторске дисертације се предлаже ВНС Александра Арсић, виши научни сарадник Института за медицинска истраживања Универзитета у Београду за ужу научну област Физиологија и биохемија.

ВНС Александра Арсић 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 ВНС Александре Арсић који су у вези са темом докторске дисертације:

1. Veselinovic M, Vasiljevic D, Vucic V, **Arsic A**, Petrovic S, Tomic-Lucic A, Savic M, Zivanovic S, Stojic V, Jakovljevic V. Clinical Benefits of n-3 PUFA and γ -Linolenic Acid in Patients with Rheumatoid Arthritis. *Nutrients* 2017; 9(4):325; doi:10.3390/nu9040325
2. Kojadinovic MI, **Arsic AC**, Debeljak-Martacic JD, Konic-Ristic AI, Kardum ND, Popovic TB, Glibetic MD. Consumption of pomegranate juice decreases blood lipid peroxidation

and levels of arachidonic acid in women with metabolic syndrome. *J Sci Food Agric*. 2017 Apr;97(6):1798-1804.

3. Vasiljevic D, Veselinovic M, Jovanovic M, Jeremic N, **Arsic A**, Vucic V, Lucic-Tomic A, Zivanovic S, Djuric D, Jakovljevic V. Evaluation of the effects of different supplementation on oxidative status in patients with rheumatoid arthritis. *Clinical Rheumatology*. 2016; 35(8):1909-1915.
4. Petrović S, **Arsić A**, Glibetić, Čikiriz N, Jakovljević V, Vučić V. The effects of polyphenol-rich chokeberry juice on fatty acid profiles and lipid peroxidation of active handball players: results from a randomized, double-blind, placebo-controlled study. *Canadian Journal of Physiology and Pharmacology*. 2016; 94(10):1058-1063.
5. **Arsic A**, Vucic V, Glibetic M, Popovic T, Debeljak-Martacic J, Cubrilo D, Ahmetovic Z, Peric D, Borozan S, Djuric D, Barudzic N. Redox balance in elite female athletes: differences based on sport types. *The Journal of sports medicine and physical fitness*. 2016; 56(1-2):1-8.
6. Ristic-Medic D, Perunicic-Pekovic G, Rasic-Milutinovic Z, Takic M, Popovic T, **Arsic A**, Glibetic M. Effects of dietary milled seed mixture on fatty acid status and inflammatory markers in patients on hemodialysis. *Scientific World Journal* 2014 Jan 22; 2014: 563576. doi: 10.1155/2014/563576.
7. Rasić-Milutinović Z, Popović T, Peruničić-Peković G, **Arsić A**, Borozan S, Glibetić M. Lower Serum Paraoxonase-1 Activity Is Related to Linoleic and Docosahexanoic Fatty Acids in Type 2 Diabetic Patients. *Archives of Medical Research* 2012; 43:75-82.

4. Научна област дисертације

Медицина. Изборно подручје: Експериментална и клиничка интерна медицина

5. Научна област чланова комисије

1. Проф. др Срђан Нинковић, ванредни професор Факултета медицинских наука Универзитета у Крагујевцу за ужу научну област *Хирургија*, председник;
2. Проф. др Драгана Стаматовић, редовни професор Медицинског факултета Војномедицинске академије Универзитета одбране у Београду за ужу научну област *Интерна медицина*, члан;
3. НС Весна Вучић, научни саветник Института за медицинска истраживања Универзитета у Београду за ужу научну област Физиологија и биохемија, члан;
4. Проф. др Небојша Анђелковић, ванредни професор Факултета медицинских наука Универзитета у Крагујевцу за ужу научну област *Интерна медицина*, члан;
5. Проф. др Нела Ђоновић, редовни професор Факултета медицинских наука Универзитета у Крагујевцу за ужу научну област *Хигијена и екологија*, члан.

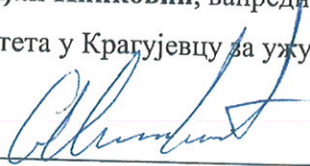
ЗАКЉУЧАК И ПРЕДЛОГ КОМИСИЈЕ

На основу досадашњег научно-истраживачког рада кандидат, Предраг Крстић, 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.

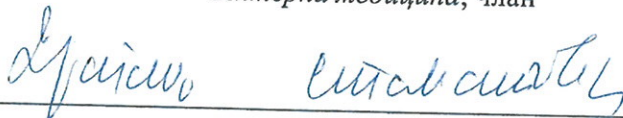
Комисија предлаже Научно-наставном већу Факултета медицинских наука Универзитета у Крагујевцу да прихвати тему докторске дисертације кандидата Предрага Крстића, под називом “Утицај суплементације омега-3 и омега-6 масним киселинама на маснокиселински профил плазме, оксидативни стрес и инфламаторни одговор код пацијенткиња на адјувантној терапији карцинома дојке“ и одобри њену израду.

ЧЛАНОВИ КОМИСИЈЕ

Проф. др Срђан Нинковић, ванредни професор Факултета медицинских наука
Универзитета у Крагујевцу за ужу научну област *Хирургија*, председник



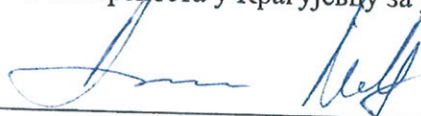
Проф. др Драгана Стаматовић, редовни професор Медицинског факултета
Војномедицинске академије Универзитета одбране у Београду за ужу научну област
Интерна медицина, члан



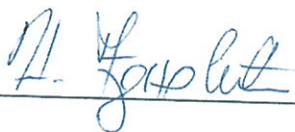
НС Весна Вучић, научни саветник Института за медицинска истраживања
Универзитета у Београду за ужу научну област *Физиологија и биохемија*, члан



Проф. др Небојша Анђелковић, ванредни професор Факултета медицинских наука
Универзитета у Крагујевцу за ужу научну област *Интерна медицина*, члан



Проф. др Нела Ђоновић, редовни професор Факултета медицинских наука
Универзитета у Крагујевцу за ужу научну област *Хигијена и екологија*, члан



У Крагујевцу, 28.02.2019. године