

УНИВЕРЗИТЕТ У КРАГУЈЕВЦУ
ФАКУЛТЕТ МЕДИЦИНСКИХ НАУКА
НАСТАВНО-НАУЧНОМ ВЕЋУ

УНИВЕРЗИТЕТ У КРАГУЈЕВЦУ
ФАКУЛТЕТ МЕДИЦИНСКИХ НАУКА
КРАГУЈЕВЦУ

Број:	28.02.18
Година:	
ЛС	2019/2-2

1. Одлука Већа за медицинске науке Универзитета у Крагујевцу

Одлуком Већа за медицинске науке Универзитета у Крагујевцу, број IV-03-97/34 од 07.02.2018. године, именовани су чланови комисије за оцену научне заснованости теме докторске дисертације кандидата **Николе Чикириза** под називом:

“Утицаји полних разлика и дијете обogaћене полифенолима на стрес изазван акутним физичким оптерећењем“

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

1. **Доц. др Иван Срејовић**, доцент Факултета медицинских наука Универзитета у Крагујевцу за ужу научну област *Физиологија*, председник;
2. **Проф. др Зоран Хајдуковић**, редовни професор Медицинског факултета Војномедицинске академије Универзитета одбране у Београду за ужу научну област *Интерна медицина*, члан;
3. **Доц. др Весела Радоњић**, доцент Факултета медицинских наука Универзитета у Крагујевцу за ужу научну област *Клиничка фармација*, члан;

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

ИЗВЕШТАЈ

Кандидат **Никола Чикириз** 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

Др Никола Чикириз је рођен 02.03.1974. године у Чачку где је завршио основну школу и Чачанску гимназију 1993. године са одличним успехом као носилац Вукове дипломе. Током средње школе учествовао и освајао многе награде такмичећи се из хемије, физике и математике. Носилац је Аласове дипломе. Дипломирао је на Медицинском факултету у Београду 2002., а тренутно је на докторским студијама на Факултету медицинских наука Универзитета у Крагујевцу из области физиологије физичког оптерећења. Специјалиста медицине спорта је од 2008. године. Специјализацију је завршио на Медицинском факултету Универзитета у Београду са одличним успехом. Обавезан лекарски стаж је обавио у 2002. године на Војномедицинској академији. 2001-2002. године је радио као наставник у средњој школи на предмету хигијена и хигијена исхране у Првој приватној угоститељској школи у Београду. Током 2002. године се активира у професионалну војну службу и ради као лекар у амбуланти Гардијске бригаде, а 2004. године постаје и управник и начелник санитетске службе Гардијске бригаде.

Током 2008. године ради као лекар на одељењу за медицину спорта Ваздухомедицинског института Војномедицинске академије, а 2009 године прелази за начелника одељења за специјалне намене са жељом да се формира ново Одељење за физиологију напора и дијететику, чији начелник постаје 2011. године и на чијем се челу налази и дан данас. Говори и пише енглески језик.

2.2. Наслов, предмет и хипотезе докторске тезе

Наслов: “Утицаји полних разлика и дијете обogaћене полифенолима на стрес изазван акутним физичким оптерећењем“

Предмет: Испитивање утицаја полних разлика и употребе концентрованог сока ароније богатог полифенолима на превенцију настајања оксидационог стреса током акутног физичког оптерећења.

Хипотезе:

Тромесечна употреба концентрованог сока ароније код здравих спортиста оба пола који се активно баве рукометом може превенирати настанак оксидационог стреса, који настаје као последица акутног физичког оптерећења.

2.3. Испуњеност услова за пријаву теме докторске дисертације

Кандидат, Никола Чикириз, је објавио рад у целини у часопису категорије M51, у коме је први аутор, чиме је стакао услов за пријаву теме докторске дисертације.

1. **Čikiriz N, Zdravkovic M, Simovic S, Zivkovic V, Jakovljevic B, Hinic S, Maksimovic R, Srejovic I, Jakovljevic V.** Focal myocarditis in professional female athlete: a case report. *Ser J Exp Clin Res.* 2017; DOI: 10.1515/sjecr-2017-0062 **M51**

2.4. Преглед стања у подручју истраживања

Многи спортисти користе различите додатке прехране како би побољшали своје наступе и како би заштитили своје здравље од штетних учинака продуженог и интензивног физичког оптерећења. Међутим, значај и корист од уноса различитих додатака исхрани су врло дискутабилни и имају до сада контраверзне резултате. Показало се да су спортисти који редовно тренирају више изложени потенцијалном оксидативном оштећењу ћелија од здраве популације, која се не бави врхунским спортом. Иако се мале количине реактивних врста кисеоника (енгл. *reactive oxygen species* - ROS) стално стварају у ћелијама током нормалних физиолошких процеса, па чак и учествују у различитим ћелијским функцијама, хиперпродукција ROS доводи до оксидационог оштећења липида, протеина и ДНК, хроничне упале и може учествовати у патогенези многих акутних и хроничних болести. Мембрански фосфолипиди, нарочито полинезасићене масне киселине (енгл. *polyunsaturated fatty acids* - PUFA) су склони оксидативном оштећењу, тако да су у крви спортиста и раније добијени резултати повећаног оксидационог стреса и промене профила масних киселина (енгл. *fatty acids* - FA) у плазми и еритроцитима. Према томе, примена различитих антиоксиданса, као што су селен, витамин Е, витамин С или полифенола је врло честа и може побољшати антиоксидациони одговор у току физичког оптерећења.

2.5. Значај и циљ истраживања

Значај истраживања се огледа у новим сазнањима о могућностима суплементације у спорту у циљу спречавања настајања оксидационог стреса и свих потенцијалних последица овог стања.

Циљ овог истраживања је процена ефеката тромесечне конзумације концентрованог сока ароније и полних ралика код здравих спортиста оба пола који се активно баве рукометом на нивое: гликемије, липида, прооксидационих и антиоксидационих молекула, хормона хипоталамусно-хипофизно-надбубрежне осовине и виших масних киселина у крви, као и на телесни састав при акутном оптерећењу. У складу са овим општим циљем постављени су и следећи специфични циљеви:

1. Испитати ефекте конзумације концентрованог сока ароније на нивое параметара оксидационог стреса: нитрита (NO_2^-), супероксид анјон радикала (O_2^-), индекса липидне пероксидације (TBARS) и водоник пероксида (H_2O_2) током акутног теста оптерећења на тредмилу.
2. Испитати ефекте конзумације концентрованог сока ароније на параметре антиоксидационе заштите: CAT (каталаза), GSH (редуковани глутатион) и SOD (супероксид-дисмутаза) током акутног теста оптерећења на тредмилу.
3. Испитати ефекте конзумације концентрованог сока ароније на телесни састав: BMI, проценат телесне масти, укупна мишићна маса, укупна маса масног ткива, количина и расподела телесне воде, количина минерала у телу.
4. Испитати ефекте конзумације концентрованог сока ароније на нивое хормона хипоталамусно-хипофизно-надбубрежне осовине: соматотропин (GH), тиреостимулирајући хормон (TSH), тироксин (T_4), тријодтиронин (T_3), адренкортикотропни хормон (ACTH), кортизол (CORT), инсулин и адреналин.
5. Испитати ефекте конзумације концентрованог сока ароније на нивое масних киселина и то засићених, мононезасићених и полинезасићених масних киселина.

2.6. Веза истраживања са досадашњим истраживањима

Бобичаство воће представља важан прехранбени извор полифенола, посебно антоцијана, који су добро познати по свом јаком антиоксидативном деловању. Међу бобичастим воћем, аронија (*Aronia melanocarpa* L.) се издваја по највећем садржају полифенола, а тиме и антиоксидационом капацитету. Најбројнији полифеноли у аронији су процианидини, антоцијанини и фенолне киселине. Ови полифеноли су у великој мери одговорни за многе од лековитих својстава и њених физиолошких учинака, с обзиром да је њихов висок садржај и дистрибуција остаје скоро исти у соку, као и код свеже бобице. Доста

података који произлазе из *in vitro*, анималних и хуманих студија указује да сок ароније: снижава хипергликемију и хипертриглицеридемију, смањује систолни и дијастолни крвни притисак, смањује укупни холестерол и LDL у серуму, док се повећава ниво HDL холестерола код особа са хиперлипидемијама.

И поред свега претходно наведеног, дејство полифенола из екстракта ароније на оксидациони статус код младих спортиста нису до сада довољно испитани. Као напоран, интервални спорт, рукомет ставља важан нагласак и на аеробни и на анаеробни метаболизам и доводи до значајног повећања продукције ROS.

2.7. Методе истраживања

2.7.1. Врста студије

Експериментална, рандомизира, двоструко слепа, плацебо контролисана студија.

2.7.2. Популација која се истражује

Здрави добровољци оба пола који се професионално баве рукометом. У студију би било укључено 40 добровољаца, који би у зависности од пола и дијететског режима били подељени у групе. Студија је осмишљена у складу са законским прописима који регулишу област клиничких испитивања, свим етичким принципима Добре клиничке праксе (*Good Clinical Practice- GCP*), етичким принципима садржаним у Хелсиншкој декларацији. Пре укључења здравих добровољаца у студију обезбедиће се одобрење надлежног Етичког комитета као и изјава пристанка испитаника уз пуну обавештеност. Експериментални протокол је одобрен од стране Етичког одбора Војно медицинске академије.

2.7.3. Узорковање

Сви здрави добровољци који би учествовали у студији би били подељени у зависности од пола и дијететског режима на групе.

1. група – здрави добровољци мушког пола који се професионално баве рукометом и користе концентровани сок ароније (n=10)
2. група - здрави добровољци мушког пола који се професионално баве рукометом и користе плацебо (n=10)

3. група – здрави добровольци женског пола који се професионално баве рукометом и користе концентровани сок ароније (n=10)

4. група - здрави добровольци женског пола који се професионално баве рукометом и користе плацебо (n=10)

2.7.4. Варијабле

Предвиђено време трајање студије је три месеца. На почетку студије би се сви укључени добровольци тестирали уностремом тест оптерећења на тредмилу уз прикупљање венске крви. Након почетног тестирања здрави добровольци би добијали адекватан дијететски режим (плацебо или концентровани сок ароније). Након шест и дванаест недеља прописаног дијететског режима би се поновило тестирање свих укључених спортиста.

Као дијета обогeћена полифенолима би се користио концентровани сок ароније, који садржи 400 mg полифенола у 30 ml сока, док би се као плацебо користио сок исте боје без полифенола. Третман (30 ml екстракта/30 ml плацеба) би се примењивао свакодневно пре тренинга.

Тест оптерећења би се спроводио на траци за трчање *Lode* и максимална кисеонична потрошња би се мерила директно *Breath by breath* на спироергометру марке *Medgraphic UltimaPro* по стандардизованом протоколу *Vita Maxima*. Тест би се прекидио након што испитаници достигну максимални ниво оптерећења, и то када би задовољили два од три критеријума (да приликом промене нивоа оптерећења не долази до повећања апсолутне вредности максималне кисеоничне потрошње за више од 150 ml, да су достигли предвиђену максималну срчану фреквенцу, и да је респираторни коефицијент већи од 1.10). Током теста оптерећења континуирано би се пратио стрес ЕКГ и крвни притисак апаратом марке *Tengo*.

Узорци венске крви (4,5ml) би се прикупљали за одређивање биохемијских параметара оксидационог стреса на почетку студије и након шест и дванаест недеља студије у три тренутка: пре (*basal*), непосредно након теста оптерећења (*peak*) и 10 минута по завршетку теста оптерећења (*recovery*). За процену редокс статуса би се из прикупљених узорака крви одређивали ензими антиоксидационе заштите (супероксид дисмутаза (SOD) и каталаза (CAT)) и редуковани глутатион (GSH)); као и параметри оксидационог стреса (супероксид анион радикал (O_2^-), водоник пероксид (H_2O_2), нитрити

(NO₂⁻), индекс липидне пероксидације (TBARS)). Такође би се из прикупљених узорака крви одређивали нивои хормона хипоталамусно-хипофизно-надбубрежне осовине као и виших масних киселина.

У базалним узорцима крви (прикупљеним пре теста оптерећења) радиле би се рутинске биохемијске анализе: уреа, креатинин, јонограм, гликемија, комплетна крвна слика, липидни профил, тотални протеини, као и њихов профил.

За узимање крви би се користиле вакумске епрувете са цитратом. Након узимања узорка крви, одвајала би се плазма од еритроцита центрифугирањем (10 минута на 5000 rpm).

За одређивање телесног састава користила би се метода биоимпеданце, *Inbody 720*, којом би се одређивали: BMI, проценат телесне масти, укупна мишићна маса, укупна маса масног ткива, количина и расподела телесне воде, количина минерала у телу. Мерење ових параметара би се спроводило ујутру на таште, после обављања физиолошких потреба.

2.7.5. Снага студије и величина узорка

Прорачун укупног узорка је заснован на претходно публикованим резултатима. За прорачун је коришћен t-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. Узимајући у обзир резултате ових студија, укупан број здравих добровољаца био би 40.

2.7.6. Статистичка обрада података

За статистичку обраду резултата ће бити коришћен статистички програм *SPSS 18.0 for Windows*: за тестирање разлика између параметара, у зависности од њихове природе, користиће се Студентов t-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.

2.8. Очекивани резултати докторске дисертације

Подаци добијени из *in vitro*, анималних и хуманих студија су показали да сок ароније има благотворне ефекте на здравље. Показано је да конзумација овог сока може да доведе до снижавања повишених вредности гликемије, триглицерида, укупног холестерол и LDL-а у серуму, док са друге стране повећава нивое HDL холестерола код особа са хиперлипидемијама. Конзумација екстракта ароније је довела до смањења повишеног систолног и дијастолног крвног притиска код експерименталних животиња. Међутим, дејство полифенола из екстракта ароније на оксидациони статус код младих спортиста нису до сада довољно испитани. Рукомет као напоран, интервални спорт, ставља важан нагласак и на аеробни и на анаеробни метаболизам и доводи до значајног повећања продукције ROS.

2.9. Оквирни садржај докторске дисертације

С обзиром на претходно наведене чињенице верујемо да ћемо овим истраживањем успети да пружимо адекватне доказе о томе када је суплементација дијетом богатом полифенолима код активних спортиста оправдана. Такође, овим истраживањем бисмо утврдили да ли суплементација концентрованим соком ароније даје полно зависне ефекте. Осим ефеката конзумације концентрованог сока ароније на нивое: гликемије, липида, прооксидационих и антиоксидационих молекула, хормона хипоталамусно-хипофизно-надбубрежне осовине и виших масних киселина у крви, као и на телесни састав. На овај начин бисмо утврдили да ли суплементација утиче на све ове параметре и код здравих добровољаца који су подвргнути физичком напору на исти начин као и код особа са одрђеним патофизиолошким стањима, као и да ли су ти ефекти полно зависни.

Сходно чињеници да дуготрајни тренинзи неповољно утичу на нивое стрес хормона и виших масних киселина, пратили би се и њихови нивои како се утврдило да ли овакав вид суплементације може позитивно да утиче на њихове нивое, као и да ли постоји разлика у ефектима између полова.

3. Предлог ментора

За ментора ове докторске дисертације се предлаже проф. др Владимир Јаковљевић, редовни професор Факултета медицинских наука Универзитета у Крагујевцу за ужу научну област Физиологија.

Проф. др Владимир Јаковљевић 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 проф. др Владимира Јаковљевића 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 α -Linolenic Acid in Patients with Rheumatoid Arthritis. *Nutrients*. 2017; 9(4). pii: E325.
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. Petrovic S, Arsic A, Glibetic M, Cikiriz N, **Jakovljevic V**, Vucic 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. *Can J Physiol Pharmacol*. 2016; 94(10): 1058-1063.
4. 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. *Clin Rheumatol*. 2016; 35(8): 1909-1915.
5. Paspalj D, Nikic P, Savic M, Djuric D, Simanic I, Zivkovic V, Jeremic N, Srejovic I, **Jakovljevic V**. Redox status in acute ischemic stroke: correlation with clinical outcome. *Mol Cell Biochem*. 2015; 406(1-2): 75-81.

6. Pesic S, Milinkovic M, Vuletic M, Barudzic N, Zivkovic V, **Jakovljevic V**, Djuric D, Stojimirovic B. Assessment of oxidative status in patients with acute kidney injury: a pilot study. *Chin J Physiol*. 2015 Apr 30;58(2):124-33.
7. Arsic A, Vucic V, Glibetic M, Popovic T, Debeljak-Martacic J, Cubrilo D, Ahmetovic Z, Peric D, Borožan S, Djuric D, Barudzic N, **Jakovljevic V**. Redox balance in elite female athletes: differences based on sport types. *J Sports Med Phys Fitness*. 2016; 56(1-2): 1-8.
8. Raicevic S, Eventov-Friedman S, Bolevich S, Selakovic D, Joksimovic J, Djuric J, Globarevic-Vukcevic G, Djuric D, **Jakovljevic V**. Correlation between oxidative stress and G6PD activity in neonatal jaundice. *Mol Cell Biochem*. 2014; 395(1-2): 273-9.
9. Veselinovic M, Barudzic N, Vuletic M, Zivkovic V, Tomic-Lucic A, Djuric D, **Jakovljevic V**. Oxidative stress in rheumatoid arthritis patients: relationship to diseases activity. *Mol Cell Biochem*. 2014; 391(1-2): 225-32.
10. Zivkovic V, Lazarevic P, Djuric D, Cubrilo D, Macura M, Vuletic M, Barudzic N, Nesic M, **Jakovljevic V**. Alteration in basal redox state of young male soccer players after a six-month training programme. *Acta Physiol Hung*. 2013; 100(1): 64-76.

4. Научна област дисертације

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

5. Научна област чланова комисије

1. **Доц. др Иван Срејовић**, доцент Факултета медицинских наука Универзитета у Крагујевцу за ужу научну област *Физиологија*, председник;
2. **Проф. др Зоран Хајдуковић**, редовни професор Медицинског факултета Војномедицинске академије Универзитета одбране у Београду за ужу научну област *Интерна медицина*, члан;
3. **Доц. др Весела Радоњић**, доцент Факултета медицинских наука Универзитета у Крагујевцу за ужу научну област *Клиничка фармација*, члан;

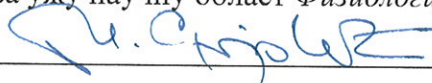
ЗАКЉУЧАК И ПРЕДЛОГ КОМИСИЈЕ

На основу досадашњег научно-истраживачког рада кандидат, Никола Чикириз, 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.

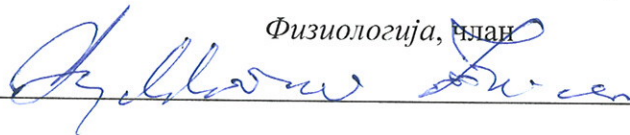
Комисија предлаже Научно-наставном већу Факултета медицинских наука Универзитета у Крагујевцу да прихвати тему докторске дисертације кандидата Николе Чикириза, под називом “Утицаји полних разлика и дијете обогаћене полифенолима на стрес изазван акутним физичким оптерећењем“ и одобри њену израду.

ЧЛАНОВИ КОМИСИЈЕ

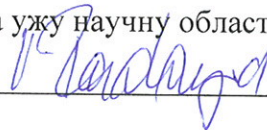
Доц. др Иван Срејовић, доцент Факултета медицинских наука Универзитета у Крагујевцу за ужу научну област *Физиологија*, председник



Проф. др Зоран Хајдуковић, редовни професор Медицинског факултета Војномедицинске академије Универзитета одбране у Београду за ужу научну област *Физиологија*, члан



Доц. др Весела Радоњић, доцент Факултета медицинских наука Универзитета у Крагујевцу за ужу научну област *Клиничка фармација*, члан



У Крагујевцу, 12.02.2018. године