

1. Одлука Наставно-научног већа

Одлуком Наставно-научног већа Факултета медицинских наука Универзитета у Крагујевцу, број 01-12209/3-2, од 25. 11. 2015. године, именовани су чланови комисије за оцену научне заснованости теме докторске дисертације кандидата Др Саше Плећевића, под називом:

„Улога физичке активности у регулацији кардиоваскуларне хомеостазе пацова“

Чланови комисије су:

1. **Доц. др Владимир Живковић**, председник, доцент Факултета медицинских наука за ужу научну област Физиологија,
2. **Доц. др Душица Ђорђевић**, члан, доцент Факултета медицинских наука за ужу научну област Методологија антропометрије,
3. **Доц. др Небојша Тасић**, члан, доцент Медицинског факултета Универзитета у Београду за ужу научну област Интерна медицина

На основу увида у приложену документацију, Комисија подноси Наставно-научном већу следећи

2. Извештај о оцени научне заснованости теме докторске дисертације

2.1. Кратка биографија кандидата

Др Саша Плећевић је рођен у Пожаревцу 1970. године, где је завршио основну и средњу медицинску школу. Медицински факултет завршио је у Нишу. Радио је у хитној медицинској помоћи у Нишу две године. Специјализацију из анестезиологије са реаниматологијом је завршио на Војномедицинској академији у Београду. У САД се усавршавао из области фитнеса.

Тренутно је запослен на Спортској академији и Вишој школи за спортске тренере у Београду. Потпарол је Удружења за медицину спорта Србије. Творац је програма др Feelgood.

2.2. Наслов, предмет и хипотеза докторске дисертације

Наслов: „Улога физичке активности у регулацији кардиоваскуларне хомеостазе пацова“

Предмет: Утицај физичке активности на вредност крвног притиска и редокс статус нормотензивних и хипертензивних пацова

Хипотеза: Пажљиво програмирана физичка активност може да редукује вредности крвног притиска хипертензивних пацова, док га не мења битније код нормотензивних пацова

2.3. Испуњеност услова за пријаву теме докторске дисертације

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

Plecevic S, Pechanova O, Barta A, Vranic A, Jeremic J, Arsenijevic Lj, Jeremic N, Jakovljevic V, Jevdjevic M, Stanojevic D. Effects Of The Direct Renin Inhibitor Aliskiren On Oxidative Stress In Isolated Rat Heart. Ser J Exp Clin Res 2015; 16(3): 193-9 M52=1.5 бод

2.4. Преглед стања у подручју истраживања

Повишен крвни притисак или хипертензија је мултифакторска болест која поседује високу епидемиолошку повезаност са кардиоваскуларним и другим болестима чиме завређује све већу пажњу здравствене заједнице. Дијагноза хипертензије се поставља у стањима када су вредности систолног крвног притиска (SP) ≥ 140 mm Hg и/или дијастолног (DP) ≥ 140 mm Hg. Предвиђа се да ће до краја 2025 године једна трећина одраслог светског становништва боловати од неког облика хипертензије. Поред тога, хипертензија је већ сада водећи узрок морталитета у најразвијенијим земљама света, са преваленцом од 55% код мушкараца старијих од 60 година односно 65% код жена исте старости. Ова болест је важан фактор ризика за појаву срчане и бубрежне инсуфицијенције, коронарне артеријске болести и инфаркта мозга. Узевши у обзир трошкове, ефикасност и склоност ка штетним споредним ефектима антихипертензивних лекова, постоји све веће интересовање за испитивање значаја промена животних навика, а нарочито физичке активности у превенцији и лечењу хипертензије. Нажалост, у савременој терапији ове болести (поготово у нашој земљи) се недовољно пажње посвећује редовном вежбању углавном због ограниченог знања о његовој ефикасности и потребним одредницама под којима се оно спроводи (трајање, интензитет и учесталост). У том смислу, Светска Здравствена Организација (СЗО) је изнела препоруку да редовна физичка активност треба да представља "прву линију" у превенцији и лечењу прехипертензивних (SP =120-139 mm Hg 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). Механизми којима физичка активност превенира раст и редукује вредност већ високог крвног притиска су јоше увек непознати. Ипак, сматра се да акутни одговор организма на вежбање подразумева повећање систолног и смањење дијастолног притиска, да би у часовима након тога дошло до потпуне редукције вредности оба притиска. Снижење крвног притиска након физичке активности настаје као последица редукције 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-мооксида (NO) који такође посредује у хипотензивном ефекту. Тип физичке активности (аеробна/анаеробна) битно детерминише одговор кардиоваскуларног система како у физиолошким тако и у патофизиолошким условима. 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.

2.5. Значај и циљ истраживања

Значај студије

Тип физичке активности (аеробна/анаеробна) битно детерминише одговор кардиоваскуларног система како у физиолошким тако и у патофизиолошким условима. 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.

Поред тога, утицај физичке активности на кардиоваскуларну хомеостазу у одсуству било каквог патофизиолошког субстрата су такође мало познати.

У том смислу, сматрамо да је од интереса да се испита утицај физичке активности на кардиоваскуларни систем пацова у условима хипертензије и нормотензије.

Циљ и хипотезе студије

Главни циљ истраживања је да се испита утицај физичке активности на вредност крвног притиска нормотензивних и хипертензивних пацова, утврдити ефекат вежбања на функцију миокарда и коронарну циркулацију нормотензивних и хипертензивних пацова, као и испитати утицај физичке активности на динамику редокс равнотеже у условима нормотензије и хипертензије.

Главне хипотезе истраживања су да: пажљиво програмирана физичка активност може да редукује вредности крвног притиска хипертензивних пацова, док га не мења битније код нормотензивних пацова, континуирано вежбање умереног интензитета може да појача снагу контракције и коронарну реактивност миокарда изолованог срца нормотензивних пацова и побољша функцију и перфузију миокарда хипертензивних пацова. Поменути тип физичке активности не узрокује претерану производњу слободних радикала и повећава активности антиоксидационих ензима заштите, код хипертензивних и нормотензивних пацова

2.6. Веза истраживања са досадашњим истраживањима

Механизми којима физичка активност превенира раст и редукује вредност већ високог крвног притиска су јоше увек непознати. Ипак, сматра се да акутни одговор организма на вежбање подразумева повећање систолног и смањење дијастолног притиска, да би у часовима након тога дошло до потпуне редукције вредности оба притиска. Снижење крвног притиска након физичке активности настаје као последица редукције 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-моноксида (NO) који такође посредује у хипотензивном ефекту. Тип физичке активности (аеробна/анаеробна) битно детерминише одговор кардиоваскуларног система како у физиолошким тако и у патофизиолошким условима. 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.

2.7. Методе истраживања

Врста студије

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

Популација која се истражује

Планирано је да истраживање обухвати 110 пацова, Wistar albino соја, мушког пола, старости 6 недеља, просечне телесне масе око 200 грама. Експерименталне животиње ће бити чуване у строго контролисаним условима (температура 25°C, циклус светлост:тама 12:12 часова), док ће вода и храна бити доступна у довољној количини да би могле да их узимају према потреби (*ad libitum*). Све експерименталне процедуре ће се радити у складу са прописаним актима (*EU Directive for the Protection of the Vertebrate Animals used for Experimental and other Scientific Purposes 86/609/EEC*) и принципима етике.

Експериментални протокол је одобрен од стране Етичког одбора за добробит експерименталних животиња Факултета Медицинских Наука Универзитета у Крагујевцу.

Материјал и методе

Животиње би се груписале у четири (4) експерименталне групе (свака група би била подељена на три подгрупе (по 8 животиња у свакој подгрупи): контролна група нормотензивних пацова, контролна група хипертензивних пацова, експериментална група нормотензивних пацова који пливају у трајању од 9 недеља (према протоколу изложеном у наставку текста), експериментална група хипертензивних пацова који пливају у трајању од 9 недеља (према протоколу изложеном у наставку текста).

У циљу изазивања клинички најближег облика хипертензије животиње одговарајућих група ће бити подвргнуте исхрани богатој сољу према раније утврђеном протоколу - 8% NaCl у води за пиће током четири недеље (животиње не користе обичну воду током експерименталног периода). Након четврте недеље хипертензија би била потврђена помоћу репне плетизмографије (сistolни крвни притисак > 170 mmHg), док би вредности хипертензије биле очитаване два пута током сваке недеље до краја експерименталног периода (након девете недеље).

Тренинг пливања би био спроведен у базену са топлем водом на $\sim 37 \pm 1 \text{ }^\circ\text{C}$ (13). Групе које пливају би биле подвргнуте периоду адаптације (20 минута првог дана) да би се трајање пливања постепено повећавало за 10 минута сваког дана док се не достигне трајање од 60 минута (петог дана). Целокупан протокол пливања би трајао 9 недеља и требао би да задовољи критеријуме аеробног тренинга издржљивости ниског интензитета, (животиње би пилвале без додатног терета), што одговара интензитету физичке активности испод анаеробног прага код пацова. Групе животиња које не пливају би се потапале у воду исте температуре (током 1 минута) у истом периоду трајања протокола како би се искључио фактор стреса изазван пливањем експерименталних животиња. Крвни притисак животиња би се континуирано пратио методом репне плетизмографије почевши од краја прве до краја девете недеље експерименталног протокола.

Након треће, шесте и девете недеље животиње би биле жртвовале да би се спровела испитивања на изолованом срцу (испитала функција миокарда и коронарна ауторегулација). Жртвовање животиња ће се спровести на начин којим се избегава патња експерименталних животиња, а у сагласности са релевантном директивом.

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: $dp/dt \max$ - максимална стопа промене притиска у левој комори, $dp/dt \min$ - минимална стопа промене притиска у левој комори, SLVP - систолни притисак леве коморе, DLVP - дијастолни притисак леве коморе, HR - срчана фреквенца. Вредност коронарног протока (CF) би се одређивала флуометријски.

Функција миокарда и коронарна ауторегулација ће се испитивати при промени перфузионог притиска, почев од притиска од 60 cmH₂O, затим 80 cmH₂O, 100 cmH₂O, 120 cmH₂O и на крају 40 cmH₂O, 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: индекс липидне пероксидације - мерен као TBARS, азот моноксид у форми нитрита (NO₂⁻), супероксид анјон радикал (O₂⁻), водоник пероксид (H₂O₂).

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.

Прорачун укупног узорка је заснован на резултатима претходно објављене студије у којој је праћен утицај пливања на вредности крвног притиска и оксидациони статус хипертензивних пацова. 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 резултата наведене студије, укупан број експерименталних животиња је прорачунат на 96 (четири групе, свака подељена на три подгрупе, по 8 у животиња у свакој подгрупи). Имајући у виду могућност искључења неких експерименталних животиња из завршне анализе, укупан студијски узорак је утврђен на 110 експерименталних животиња.

За статистичку обраду резултата ће бити коришћен статистички програм *SPSS 18.0 for Windows*: 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. За испитивање нормалности расподеле користиће се тестови *Kolmogorov Smirnov* и *Shapir Wilk*, и графици: хистограм и *normal QQ plot*. 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.

2.8. Очекивани резултати докторске дисертације

Добијени резултати би требало да послуже у 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 велике популације болесника. Поред тога, расветлили би се ефекти пажљиво планиране физичке активности на функцију кардиоваскуларног система како у нормотензивним тако и хипертензивним

условима, чиме би се поставили незаобилазни и важни темељи будућих експерименталних и клиничких студија.

2.9. Оквирни садржај дисертације

Циљ ове студије би био да испита утицај физичке активности на вредност крвног притиска и редокс статус нормотензивних и хипертензивних пацова. Хипертензија би била индукована путем исхране богатој сољу према раније утврђеном протоколу - 8% NaCl у води за пиће током четири недеље. Након четврте недеље хипертензија би била потврђена помоћу репне плетизмографије. Тренинг пливања би био спроведен у базену са топлом водом на $\sim 37^{\circ} \pm 1^{\circ} \text{C}$ у трајању од девет недеља. Након треће, шесте и девете недеље животиње би биле жртвовале да би се спровела испитивања на изолованом срцу методом по Langendorff-у. Пратили би се маркери срчане функције: dp/dt max, dp/dt min, SLVP, DLVP, HR и CF, док би се у узорцима коронарног венског ефлуента, спектрофотометријским методама одређивали биомаркери оксидативног стреса: TBARS, NO_2^- , O_2^- , H_2O_2 .

Резултати ове студије би требали да помогну у расветљавању ефеката пажљиво планиране физичке активности на функцију кардиоваскуларног система како у нормотензивним тако и хипертензивним условима

2.10. Предлог ментора

За ментора се предлаже **Проф. др Владимир Јаковљевић**, редовни професор Факултета медицинских наука Универзитета у Крагујевцу за ужу научну област Физиологија.

2.11. Научна област дисертације

Медицина. Ужа област: Експериментална физиологија.

2.12. Научна област чланова комисије

1. **Доц. др Владимир Живковић**, председник, доцент Факултета медицинских наука за ужу научну област Физиологија,
2. **Доц. др Душица Ђорђевић**, члан, доцент Факултета медицинских наука за ужу научну област Методологија антропометрије,
3. **Доц. др Небојша Тасић**, члан, доцент Медицинског факултета Универзитета у Београду за ужу научну област Интерна медицина

Закључак и предлог комисије

1. На основу увида у резултате досадашње научно-истраживачке активности и публиковане радове Саше Плећевића, комисија закључује да кандидат поседује одговарајуће компетенције и да испуњава све услове да приступи изради 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 да расветли ефекте пажљиво планиране физичке активности на функцију кардиоваскуларног система како у нормотензивним тако и хипертензивним условима.
3. Комисија сматра да ће предложена докторска теза Саше Плећевића бити од великог научног и практичног значаја у смислу проучавања повишеног крвног притиска.
4. Комисија предлаже Наставно-научном већу Факултета медицинских наука у Крагујевцу да прихвати пријаву теме докторске дисертације кандидата Саше Плећевића под називом „Улога физичке активности у регулацији кардиоваскуларне хомеостазе пацова“ и одобри њену израду.

ЧЛАНОВИ КОМИСИЈЕ:

Доц. др Владимир Живковић, председник, доцент Факултета медицинских наука за ужу научну област Физиологија

Доц. др Душица Ђорђевић, члан, доцент Факултета медицинских наука за ужу научну област Методологија антропологије

Доц. др Небојша Тасић, члан, доцент Медицинског факултета Универзитета у Београду за ужу научну област Интерна медицина

У Крагујевцу, 23. 12. 2015.