

1. Одлука Већа за медицинске науке Универзитета у Крагујевцу

Одлуком Већа за медицинске науке Универзитета у Крагујевцу, број IV-03-268/52, од 13. 04. 2016. године, именовани су чланови комисије за оцену научне заснованости теме докторске дисертације кандидата Кристине Радоман, под називом:

„Утицај исхране обогаћене ОМЕГА-3 и ОМЕГА-6 масним киселинама на функцију миокарда и оксидативно-инфламацијске параметре код срца старих пацова”

Чланови комисије су:

1. **Проф. др Нела Ђоновић**, председник, ванредни професор Факултета медицинских наука Универзитета у Крагујевцу за ужу научну област Хигијена са медицинском екологијом,
2. **Проф. др Владимир Јаковљевић**, члан, редовни професор Факултета медицинских наука Универзитета у Крагујевцу за ужу научну област Физиологија,
3. **НС др Весна Вучић**, члан, научни саветник Центра изузетних вредности у области истраживања исхране и метаболизма Института за медицинска истраживања Универзитета у Београду за ужу научну област Физиологија и биохемија,
4. **Проф. др Недељко Манојловић**, члан, ванредни професор Факултета медицинских наука Универзитета у Крагујевцу за ужу научну област Фармацеутска анализа,
5. **Проф. др Нада Пејновић**, члан, ванредни професор Факултета медицинских наука Универзитета у Крагујевцу за ужу научну област Патолошка физиологија,

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

Кристина Радоман је рођена у Подгорици 30. 08. 1983. године. Завршила је средњу медицинску школу у Подгорици, а Високу здравствену школу струковних студија, као и Факултет за менаџмент, смер менаџмент у здравству у Београду. Студент је треће године

Докторских академских студија на Факултету медицинских наука Универзитета у Крагујевцу, смер Превентивна медицина, положила је усмени докторски испит.

Ради као наставник практичне наставе у средњој медицинској школи у Подгорици од 2011. године.

Говори енглески језик, познаје рад на рачунарима. Удата, мајка двоје деце.

2.2. Наслов, предмет и хипотеза докторске дисертације

Наслов: „Утицај исхране обogaћене ОМЕГА-3 и ОМЕГА-6 масним киселинама на функцију миокарда и оксидативно-инфламацијске параметре код срца старих пацова”

Предмет: Испитивање хроничних ефеката примене омега-3 и омега-6 масних киселина или суплемената који их садрже (уља лана и ноћурка) на функцију миокарда, коронарни проток и оксидо-инфламацијске параметре старих пацова.

Хипотеза: Употреба омега-3 масних киселина и суплемента (уља лана) који их садржи може позитивно да утиче на функцију и перфузију миокарда. Поред тога, очекује се да ове киселине или уље лана редукују вредности оксидо-инфламацијских параметара. Употреба омега-6 масних киселина или суплемента (уља ноћурка) који их садржи би требало да изазове супротне ефекте.

2.3. Испуњеност услова за пријаву теме докторске дисертације

Кандидаткиња је објавила један рад у целини за штампу у рецензираном часопису категорије М52, у коме је први аутор, чиме је испунила услов за пријаву докторске тезе:

Radoman K, Vucic V, Arsic A, Cubrilo D, Jeremic N, Jeremic J, Jakovljevic V. Effects of different PUFA supplementation on inflammatory response markers in young soccer players. *Ser J Exp Clin Res* 2015; 16(4): 305-11 (**М52=1.5 бод**)

2.4. Преглед стања у подручју истраживања

Масне киселине су важне, не само зато што служе као извор енергије, већ и зато што су есенцијални конституенси природних липида који изграђују биомембране. С обзиром да представљају прекурсоре у синтези еикосаноида, сматра се да поремећај њиховог метаболизма доприноси развоју атеросклерозе и кардиоваскуларних обољења. Здрава исхрана подразумева уравнотежен унос омега-3 и омега-6 масних киселина. Проблем савремене исхране је што је последњих година повећан унос омега (ω)-6 масних киселина, путем уља и маргарина који се налазе у многим производима, док је унос омега (ω)-3 масних киселина смањен. Полинезасићене ω -3 масне киселине су важне компоненте ћелијске мембране јер утичу на њену функцију, тиме што су инкорпорирани у

фосфолипиде. Престанак уноса есенцијалних масних киселина је штетан за здравље. Раније је показано да унос ω -3 масних киселина штити младе и старе јединке, спонтано хипертензивних пацова.

Са друге стране, кардиоваскуларне болести представљају водећи узрок смрти у већини земаља света. Подаци из клиничких и експерименталних студија подржавају хипотезу да коришћење ω -3 масних киселина смањује ризик од развоја кардиоваскуларних болести и настанка изненадне срчане смрти. За разлику од ω -3, употреба ω -6 масних киселина може бити повезана са поремећајем функције срчаног мишића и реактивности коронарне циркулације. Поред тога, показано је да поремећаји кардиодинамских параметара и коронарног протока могу бити посредовани оксидативним оштећењем срчаног мишића.

С обзиром да су подаци о утицају ω -3 и ω -6 масних киселина на срце и крвне судове још увек неусаглашени, у новије време се све већа пажња посвећује проучавању биљних препарата који садрже неку од ових киселина.

Употреба ланеног уља и његових компоненти је повезана са превенцијом или смањењем настанка кардиовакуларних болести. Уље лана садржи смешу масних киселина, првенствено полинезасићених, од којих је најзаступљенија ω -3 α -линоленска киселина (51.9-55.2%), а затим олеинска (18.5-22.6%), линолна (14.2-17%), палмитинска (око 7%) и стеаринска киселина (3.4-4.6%). Укупан проценат свих масних киселина у семену лана износи 35-45%, док су поред тога заступљени и протеини (20-30%), влакна (28%), различити витамини (А, В₁₋₃, В₅, В₆, В₉, С) и минерали (Mg²⁺, P⁵⁺, Zn²⁺, Ca²⁺, K⁺, Fe²⁺) (11). Ипак, сматра се да позитивни ефекти уља ланеног семена на кардиоваскуларни систем пре свега потичу од ω -3 α -линоленске киселине).

Главни састојак уља ноћурка су ω -6 полинезасићене масне киселине (82%) и то линолна (73%) и γ -линоленска (9%), док у његов састав улазе и протеини (15%) и угљени хидрати (3%). Овај препарат се последњих година се често користи у превентиви и помоћној терапији различитих кардиоваскуларних болести. Његови ефекти су, међутим, још увек недовољно познати.

2.5. Значај и циљ истраживања

Значај студије

С обзиром да су подаци о утицају ω -3 и ω -6 масних киселина на срце и крвне судове још увек неусаглашени, у новије време се све већа пажња посвећује проучавању биљних препарата који садрже неку од ових киселина.

Употреба ланеног уља и његових компоненти је повезана са превенцијом или смањењем настанка кардиовакуларних болести. Уље лана садржи смешу масних киселина, првенствено полинезасићених, од којих је најзаступљенија ω -3 α -линоленска киселина (51.9-55.2%), а затим олеинска (18.5-22.6%), линолна (14.2-17%), палмитинска (око 7%) и стеаринска киселина (3.4-4.6%). Укупан проценат свих масних киселина у семену лана

износи 35-45%, док су поред тога заступљени и протеини (20-30%), влакна (28%), различити витамини (А, В₁₋₃, В₅, В₆, В₉, С) и минерали (Mg²⁺, P⁵⁺, Zn²⁺, Ca²⁺, K⁺, Fe²⁺) (11). Ипак, сматра се да позитивни ефекти уља ланеног семена на кардиоваскуларни систем пре свега потичу од ω-3 α-линоленске киселине).

Главни састојак уља ноћурка су ω-6 полинезасићене масне киселине (82%) и то линолна (73%) и γ-линоленска (9%), док у његов састав улазе и протеини (15%) и угљени хидрати (3%). Овај препарат се последњих година се често користи у превентиви и помоћној терапији различитих кардиоваскуларних болести. Његови ефекти су, међутим, још увек недовољно познати.

Студија би имала за циљ да испита хроничне ефекте примене омега-3 и омега-6 масних киселина или суплемената који их садрже (уља лана и ноћурка) на функцију миокарда, коронарни проток и оксидо-инфламацијске параметре старих пацова.

Циљ и хипотезе студије

Главни циљ истраживања је да испита хроничне ефекте примене омега-3 и омега-6 масних киселина или суплемената који их садрже (уља лана и ноћурка) на функцију миокарда, коронарни проток и оксидо-инфламацијске параметре старих пацова.

Главна хипотеза студије је да употреба омега-3 масних киселина и суплемента (уља лана) који их садржи може позитивно да утиче на функцију и перфузију миокарда. Поред тога, очекује се да ове киселине или уље лана редукују вредности оксидо-инфламацијских параметара. Употреба омега-6 масних киселина или суплемента (уља ноћурка) који их садржи би требало да изазове супротне ефекте. .

2.6. Веза истраживања са досадашњим истраживањима

Масне киселине су важне, не само зато што служе као извор енергије, већ и зато што су есенцијални конституенци природних липида који изграђују биомембране. С обзиром да представљају прекурсоре у синтези еикосаноида, сматра се да поремећај њиховог метаболизма доприноси развоју атеросклерозе и кардиоваскуларних обољења. Здрава исхрана подразумева уравнотежен унос омега-3 и омега-6 масних киселина. Проблем савремене исхране је што је последњих година повећан унос омега (ω)-6 масних киселина, путем уља и маргарина који се налазе у многим производима, док је унос омега (ω)-3 масних киселина смањен. Полинезасићене ω-3 масне киселине су важне компоненте ћелијске мембране јер утичу на њену функцију, тиме што су инкорпорирани у фосфолипиде. Престанак уноса есенцијалних масних киселина је штетан за здравље. Раније је показано да унос ω-3 масних киселина штити младе и старе јединке, спонтано хипертензивних пацова.

Са друге стране, кардиоваскуларне болести представљају водећи узрок смрти у већини земаља света. Подаци из клиничких и експерименталних студија подржавају хипотезу да коришћење ω -3 масних киселина смањује ризик од развоја кардиоваскуларних болести и настанка изненадне срчане смрти. За разлику од ω -3, употреба ω -6 масних киселина може бити повезана са поремећајем функције срчаног мишића и реактивности коронарне циркулације. Поред тога, показано је да поремећаји кардиодинамских параметара и коронарног протока могу бити посредовани оксидативним оштећењем срчаног мишића.

2.7. Методе истраживања

У питању је експериментална студија на животињама и анималном материјалу, у оквиру које се део изводи *in vitro*. Студија је одобрена од стране Етичког одбора Факултета медицинских наука, као и Управе за ветерину Министарства пољопривреде и заштите животне средине.

Планирано истраживање би обухватило 120 пацова (Wistar albino сој, мушког и женског пола, старости 24 недеље, просечне телесне масе 550 ± 50 грама) којима би се изоловало срце и перфундовало методом ретроградне перфузије по Лангендорфу (*Langendorff apparatus, Experimetria Ltd, 1062 Budapest, Hungary*) при промени перфузионог притиска у опсегу од 40 до 120 cmH₂O.

С обзиром да уља лана и ноћурка поред омега 3 и омега 6 масних киселина садрже и друге супстанце, ради прецизног испитивања појединачног ефеката ових масних киселина, поред поменутих уља примениће се и чисте супстанце ових масних киселина, и то α -линоленска киселина (омега-3 масна киселина) и линолна киселина (омега-6 масна киселина). Животиње би биле груписане у 10 група (2 контролне и 8 експерименталних група): прва контролна група (n=10, мушког пола) која ће бити храњена уобичајеном лабораторијском храном за пацове и биће јој апликован физиолошки раствор гаважом у количини еквивалентној примењеним препаратима; прва експериментална група (n=10, мушког пола) којој ће се α -линоленска киселина апликовати гаважом у дози од 165 mg/kg/тт дневно током периода од 6 недеља; друга експериментална група (n=10, мушког пола) којој ће се уље ланеног семена апликовати гаважом у дози од 300 mg/kg/тт дневно током периода од 6 недеља; трећа експериментална група (n=10, мушког пола), којој ће се линолна киселина апликовати гаважом у дози од 7,3 mg/kg/тт дневно, током периода од 6 недеља; четврта експериментална група (n=10, мушког пола), којој ће се уље ноћурка апликовати гаважом у дози од 10 mg/kg/тт дневно, током периода од 6 недеља; друга контролна група (n=10, женског пола) која ће бити храњена уобичајеном лабораторијском храном за пацове и биће јој апликован физиолошки раствор гаважом у количини еквивалентној примењеним препаратима; пета експериментална група (n=10, женског пола) којој ће се α -линоленска киселина апликовати гаважом у дози од 165 mg/kg/тт током периода од 6 недеља; шеста експериментална група (n=10, женског пола) којој ће се уље

ланеног семена апликовати гаважом у дози од 300 mg/kg/тг дневно током периода од 6 недеља; седма експериментална група (n=10, женског пола), којој ће се линолна киселина апликовати гаважом у дози од 7,3 mg/kg/тг дневно, током периода од 6 недеља; осма експериментална група (n=10, женског пола) којој ће се уље ноћурка апликовати гаважом у дози од 10 mg/kg/тг дневно, током периода од 6 недеља.

Након успостављања стабилног срчаног рада, уклањањем леве преткоморе и прокидањем митралне валвуле омогућило би се убацивање сензора у леву комору ради директног и континуираног праћења следећих 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. Величина коронарне ауторегулације би се одређивала на основу флуорометријски измерене вредности коронарног протока на сваком од задатих вредности перфузионог притиска. Коронарни проток (CF) ће се мерити флоуметријски. У оквиру експеримента пратиће се наведени кардиодинамски параметри при перфузији комплексним Krebs-Hensenleit-овим раствором на различитим вредностима промене коронарног перфузионог притиска (CPP), почев од притиска од 60 cmH₂O, затим 80 cmH₂O, 100 cmH₂O, 120 cmH₂O и на крају 40 cmH₂O, и за сваку вредност перфузионог притиска ће се регистровати параметри функције леве коморе.

Про-оксидативни маркери (водоник-пероксид (H₂O₂), супероксид анијон радикал (O₂⁻), азот моноксид (NO), индекс липидне пероксидације (TBARS) ће бити одређивани из коронарног венског ефлуента који би се сакупљао у епрувете из коронарног венског синуса срца на свакој задатој вредности CPP-а. Из узорака крви биће одређиване активности антиоксидативних ензима супероксид димутаза (SOD), каталазе (CAT) и редукваног глутатиона (GSH). Мерење свих ових параметара биће спроведено на UV/VIS спектрофотометру. Поред биомаркера из узорака крви је планирано одређивање концентрације инфламаторних маркера интерлеукина 6 (IL-6) и фактора некрозе тумора алфа (TNF-α) ELISA методом.

За статистичку обраду резултата биће коришћен статистички програм *SPSS 18.0 for Windows*. У статистичкој обради података ће се употребити двофакторска анализа варијансе са поновљеним мерењима, као и Студентов Т-тест за везане узорке. Статистичка значајност разлике биће постављена на нивоу од $p < 0.05$.

2.8. Очекивани резултати докторске дисертације

Добијени резултати ће допринети разјашњењу и бољем схватању ефеката омега-3 и омега-6 масних киселина на кардиоваскуларни систем, параметре оксидативног стреса и инфламације. Испитивањем модулације редокс равнотеже и инфламацијског статуса

избалансираним уносом омега масних киселина, отвара се могућност за примену ових киселина (или препарата који их садрже) у превенцији и терапији кардиоваскуларних обољења. Ова сазнања могу бити корисна имајући у све већу виду клиничку и ванклиничку употребу омега масних киселина.

2.9. Оквирни садржај дисертације

Студија би имала за циљ да испита хроничне ефекте примене омега-3 и омега-6 масних киселина или суплемената који их садрже (уља лана и ноћурка) на функцију миокарда, коронарни проток и оксидо-инфламацијске параметре старих пацова. Добијени резултати ће допринети разјашњењу и бољем схватању ефеката ω -3 и ω -6 масних киселина на кардиоваскуларни систем и оксидо-инфламацијску равнотежу.

3. Предлог ментора

За ментора се предлаже Доц. др **Владимир Живковић**, доцент Факултета медицинских наука за ужу научну област Физиологија. Предложени наставник 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 у вези са темом докторске дисертације:

1. Milicic V, **Zivkovic V**, Jeremic N, Arsenijevic N, Djuric D, Jakovljevic VLj. Coronary flow and oxidative stress during local anaphylactic reaction in isolated mice heart: the role of nitric oxide (NO). *Mol Cell Biochem.* 2016;412(1-2):221-7.
2. Rosic G, Selakovic D, Joksimovic J, Srejovic I, **Zivkovic V**, Tatalović N, Orescanin-Dusic Z, Mitrovic S, Ilic M, Jakovljevic V. The effects of N-acetylcysteine on cisplatin-induced changes of cardiodynamic parameters within coronary autoregulation range in isolated rat hearts. *Toxicol Lett.* 2016;242:34-46.
3. Nikolic T, **Zivkovic V**, Jevdjevic M, Djuric M, Srejovic I, Djuric D, Jeremic N, Djuric D, Bolevich S, Jakovljevic V. The effects of chronic administration of nandrolone decanoate on redox status in exercised rats. *Mol Cell Biochem.* 2016;411(1-2):95-105.
4. Jeremic N, Petkovic A, Srejovic I, **Zivkovic V**, Djuric D, Jakovljevic V. Effects of ischemia and omeprazole preconditioning on functional recovery of isolated rat heart. *Rev Bras Cir Cardiovasc.* 2015;30(2):266-75.
5. Srejovic I, Jakovljevic V, **Zivkovic V**, Barudzic N, Radovanovic A, Stanojlovic O, Djuric DM. The effects of the modulation of NMDA receptors by homocysteine

thiolactone and dizocilpine on cardiodynamics and oxidative stress in isolated rat heart. Mol Cell Biochem. 2015;401(1-2):97-105.

4. Научна област дисертације

Научна област: Медицина. Ужа научна област: Експериментална физиологија.

5. Научна област чланова комисије

1. **Проф. др Нела Ђонових**, председник, ванредни професор Факултета медицинских наука Универзитета у Крагујевцу за ужу научну област Хигијена са медицинском екологијом,
2. **Проф. др Владимир Јаковљевић**, члан, редовни професор Факултета медицинских наука Универзитета у Крагујевцу за ужу научну област Физиологија,
3. **НС др Весна Вучић**, члан, научни саветник Центра изузетних вредности у области истраживања исхране и метаболизма Института за медицинска истраживања Универзитета у Београду за ужу научну област Физиологија и биохемија,
4. **Проф. др Недељко Манојловић**, члан, ванредни професор Факултета медицинских наука Универзитета у Крагујевцу за ужу научну област Фармацеутска анализа,
5. **Проф. др Нада Пејновић**, члан, ванредни професор Факултета медицинских наука Универзитета у Крагујевцу за ужу научну област Патолошка физиологија.

Закључак и предлог комисије

1. На основу увида у резултате досадашње научно-истраживачке активности и публиковане радове Кристине Радоман, 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 испита ефекте омега-3 и омега-6 масних киселина на кардиоваскуларни систем, параметре оксидативног стреса и инфламације.

3. Комисија сматра да ће предложена докторска теза Кристине Радоман бити од великог научног и практичног значаја у смислу испитивања утицаја омега-3 и омега-6 масних киселина на кардиоваскуларни систем.

4. Комисија предлаже Наставно-научном већу Факултета медицинских наука у Крагујевцу да прихвати пријаву теме докторске дисертације кандидата Кристине Радоман под називом **„Утицај исхране обогаћене ОМЕГА-3 и ОМЕГА-6 масним киселинама на функцију миокарда и оксидативно-инфламацијске параметре код срца старих пацова”** и одобри њену израду.

ЧЛАНОВИ КОМИСИЈЕ:

Проф. др Нела Ђоновић, председник, ванредни професор Факултета медицинских наука Универзитета у Крагујевцу за ужу научну област Хигијена са медицинском екологијом

Проф. др Владимир Јаковљевић, председник, редовни професор Факултета медицинских наука Универзитета у Крагујевцу за ужу научну област Физиологија

НС др Весна Вучић, члан, научни саветник Центра изузетних вредности у области истраживања исхране и метаболизма Института за медицинска истраживања Универзитета у Београду за ужу научну област Физиологија и биохемија

Проф. др Недељко Манојловић, члан, ванредни професор Факултета медицинских наука Универзитета у Крагујевцу за ужу научну област Фармацеутска анализа

Проф. др Нада Пејновић, члан, ванредни професор Факултета медицинских наука Универзитета у Крагујевцу за ужу научну област Патолошка физиологија

Крагујевац, 25. 04. 2016.