

## NAUČNOM VEĆU MEDICINSKOG FAKULTETA UNIVERZITETA U BEOGRADU

Na sednici Nastavno – naučnog veća Medicinskog fakulteta u Beogradu, održanoj dana 30.06.2023. godine, broj 14/XV-3/3-HT, imenovana je komisija za ocenu završene doktorske disertacije pod naslovom:

**„Povezanost strukturne organizacije hromatina neutrofilnih granulocita periferne krvi, mentalnog distresa i intenziteta fizičke aktivnosti sportista“**

kandidata dr Nikole Topalovića, zaposlenog na Institutu za medicinsku fiziologiju „Rihard Burijan“, Medicinskog fakulteta Univerziteta u Beogradu.

Mentori doktorske disertacije su prof. dr Igor Pantić, Institut za medicinsku fiziologiju „Rihard Burijan“, Medicinski fakultet Univerziteta u Beogradu, i prof. dr Olivera Vuković, Institut za mentalno zdravlje, Medicinski fakultet Univerziteta u Beogradu.

Komisija za ocenu završene doktorske disertacije imenovana je u sastavu:

1. Prof. dr Sanja Mazić, predsednik, redovni profesor Medicinskog fakulteta, Univerzitet u Beogradu
2. Prof. dr Dejan Nešić, redovni profesor Medicinskog fakulteta, Univerzitet u Beogradu
3. Prof. dr Ivana Stašević - Karličić, vanredni profesor Medicinskog fakulteta u Prištini, sa privremenim sedištem u Kosovskoj Mitrovici

Na osnovu analize priložene doktorske disertacije, komisija za ocenu završene doktorske disertacije jednoglasno podnosi Naučnom veću Medicinskog fakulteta sledeći

### IZVEŠTAJ

#### **A) Prikaz sadržaja doktorske disertacije**

Doktorska disertacija dr Nikole Topalovića napisana je na srpskom jeziku, u skladu sa Statutom Univerziteta u Beogradu i Pravilnikom o doktorskim studijama na Univerzitetu u Beogradu. Sadrži ukupno 120 strana i podeljena je na sledeća poglavlja: uvod, ciljevi rada, materijal i metode, rezultati, diskusija, zaključci i literatura. U disertaciji se nalazi ukupno 1 shema, 6 tabela, 23 grafikona i 8 slika; prve 4 slike (ilustracija) je preuzeto i prevedeno iz naučne literature koja je pravilno citirana u tekstu i u spisku referenci. Doktorska disertacija sadrži još: sažetak na srpskom i engleskom jeziku, podatke o komisiji, zahvalnicu, spisak skraćenica korišćenih u tekstu, publikovane radove, biografiju doktoranta, Izjavu o autorstvu, Izjavu o istovetnosti štampane i elektronske verzije doktorskog rada i Izjavu o korišćenju.

U **Uvodu** su opisani definicija i uloga hromatina, sa posebnim akcentom na savremene metode koje se koriste za procenu strukturne organizacije hromatina. Precizno je objašnjen proces analize strukture hromatina upotrebom GLCM (*engl. Gray Level Co-occurrence Matrix*) teksturalne analize, i jasno su predstavljene sve statističke vrednosti koje se uz pomoć GLCM analize mogu dobiti, kao i njihova značajnost u procesu analize i opisa rezultata. Definisan je pojam mentalnog distresa, uz posebno naglašavanje svih komponenti koje mentalni distress uključuje. Navedeni su najčešći etiološki faktori značajni za razvoj depresije, stresa, anksioznosti i emocionalne regulacije, kao i mehanizmi nastanka prethodno navedenih komponenti mentalnog distresa. Detaljno je opisana međusobna povezanost imunog sistema i mentalnog distresa na različitim nivoima organizacije. Jasno je definisan termin fizičke aktivnosti, kao i termini fizičkog vežbanja, fizičke spremnosti i sporta. Kroz uvodna razmatranja opisane su opšte uloge i značaj fizičke aktivnosti, a zatim su sistematično analizirane sve dostupne metode koje se koriste za validnu, preciznu, pouzdanu i ponovljivu procenu intenziteta fizičke aktivnosti. Istaknut je značaj različitog intenziteta fizičke aktivnosti kao modulišućeg faktora funkcije neutrofilnih granulocita. U uvodu je, takođe ukazano na pozitivni uticaj fizičke aktivnosti na različite komponente mentalnog distresa, i time je uvodnim izlaganjem postavljena dobra osnova zadatim ciljevima ove doktorske disertacije.

**Ciljevi rada** su precizno definisani, a sastoje se od ispitivanja da li postoji statistički značajna korelacija između teksturalnih parametara strukture i distribucije hromatina neutrofilnih granulocita periferne krvi i nivoa mentalnog distresa kod sportista, zatim od analize da li intenzitet fizičke aktivnosti sportista statistički značajno utiče na povezanost strukture hromatina neutrofilnih granulocita periferne krvi i nivoa mentalnog distresa, i od predlaganja modela zasnovanog na metodama veštačke inteligencije i mašinskog učenja koji bi mogao na osnovu parametara strukturne organizacije hromatina neutrofilnih granulocita periferne krvi da utvrdi postojanje mentalnog distresa kod sportista.

U poglavlju **Materijal i metode** je navedeno da se radi o studiji preseka koja je sprovedena na zdravim Univerzitskim sportistima muškog i ženskog pola presečne starosti  $22.8 \pm 2.2$  godina u Laboratoriji za medicinu sporta i terapiju vežbanjem, kao i u Laboratoriji za celularnu fiziologiju, Instituta za medicinsku fiziologiju Medicinskog fakulteta, Univerziteta u Beogradu. Jasno su navedeni kriterijumi za uključanje u studiju, kao i kriterijumi za isključenje iz studije. Detaljno su opisani protokoli fizikalnog pregleda i antropometrijskih merenja svakog ispitanika, kao i proces pravljenja krvnih razmaza korišćenih za metodu GLCM teksturalne analize. Objašnjen je način intervjua i popunjavanja upitnika od strane ispitanika, sprovedenih u cilju otkrivanja postojanja mentalnog distresa i procene intenziteta fizičke aktivnosti.

Svi upitnici koji su korišćeni u studiji su detaljno opisani, a pojašnjen je i način skorovanja. Precizno je navedena statistička analiza svih dobijenih rezultata. Studija je sprovedena u skladu sa Helsinškom deklaracijom, a odobrena je i od strane Etičkog komiteta, Medicinskog fakulteta, Univerziteta u Beogradu (licenca broj 1322/VII-17). Svi ispitanici bili su detaljno informisani o protokolima i ciljevima studije i dali su pisani pristanak pre uključenja u studiju. U poglavlju **Rezultati** detaljno su opisani i jasno predstavljeni svi dobijeni rezultati.

**Diskusija** je napisana jasno i pregledno, uz prikaz podataka drugih istraživanja sa uporednim pregledom dobijenih rezultata doktorske disertacije.

**Zaključci** sažeto prikazuju najvažnije nalaze koji su proistekli iz rezultata rada.

Korišćena **Literatura** sadrži spisak od 351 reference.

## **B) Provera originalnosti doktorske disertacije**

Na osnovu Pravilnika o postupku provere originalnosti doktorskih disertacija koje se brane na Univerzitetu u Beogradu i nalaza u izveštaju iz programa iThenticate kojim je izvršena provera originalnosti doktorske disertacije „Povezanost strukturne organizacije hromatina neutrofilnih granulocita periferne krvi, mentalnog distresa i intenziteta fizičke aktivnosti sportista”, autora Nikole Topalovića, konstatovano je da podudaranje teksta iznosi 6%. Ovaj stepen podudarnosti posledica je citiranja rezultata publikovanih studija drugih autora, kao i prethodno publikovanih rezultata doktorantovih istraživanja, koji su proistekli iz njegove disertacije, što je u skladu sa članom 9. Pravilnika o postupku provere originalnosti doktorskih disertacija koje se brane na Univerzitetu u Beogradu („Glasnik Univerziteta u Beogradu“, broj 204/18).

## **C) Kratak opis postignutih rezultata**

U ovoj studiji je učestvovalo ukupno 100 ispitanika, od čega 60 ispitanika muškog i 40 ispitanica ženskog pola. Na osnovu rezultata dobijenih analizom telesne kompozicije ispitanika dobijene su statistički visoko značajne razlike između svih antropometrijskih parametara ispitanika muškog i ženskog pola. Vrednosti telesne visine, telesne mase, BMI i procenta telesnih mišića bile su statistički značajno veće u grupi ispitanika muškog pola. Sa druge strane, kod ispitanica ženskog pola, procenat telesnih masti bio je statistički značajno veći.

Rezultati ove studije ukazali su da različit intenzitet fizičke aktivnosti nije uslovio postojanje statistički značajnih razlika u vrednostima komponenti mentalnog distresa. Analizom povezanosti umerene i visoko intenzivne fizičke aktivnosti sa parametrima emocionalne regulacije (emocionalne supresije i kognitivne preformulacije) nije dobijena statistički značajna korelacija.

Uporednom analizom GAD-7 upitnika za ispitivanje generalizovane anksioznosti i različitog intenziteta fizičke aktivnosti nije detektovana statistički značajna povezanost. Rezultati koji su dobijeni analizom skorova za DASS-21 skalu koja procenjuje depresivnost, anksioznost i stres sa vrednostima umerene, kao i visoko intenzivne fizičke aktivnosti, nisu pokazali postojanje statistički značajne povezanosti.

Analizom rezultata detektovana je statistički visoko značajna negativna korelacija između vrednosti inverznog momenta razlike jedarne strukture neutrofilnih granulocita i DASS-21 skora. Slična, takođe negativna i statistički visoko signifikantna korelacija je pronađena između ovog skora i angularnog drugog momenta. Rezultati su ukazali i da je GLCM kontrast bio pozitivno povezan sa DASS-21 skorom, a povezanost je takođe bila statistički visoko značajna. Nije utvrđena statistički značajna povezanost između DASS-21 skora i vrednosti teksturalne korelacije, kao i GLCM varijanse jedra neutrofilnih granulocita. Nivo generalizovane anksioznosti meren GAD-7 skorom je bio statistički značajno povezan sa pojedinim teksturalnim indikatorima jedarne strukture neutrofilnih granulocita periferne krvi. Utvrđena je statistički visoko značajna negativna korelacija između angularnog drugog momenta i nivoa anksioznosti. Takođe, slična, ali još jača negativna korelacija je utvrđena između GAD-7 skora i inverznog momenta razlike jedarne strukture. Sa druge strane, veoma jaka, ali pozitivna, statistički visoko signifikantna korelacija je detektovana između teksturalnog kontrasta jedarne strukture hromatina neutrofilnih granulocita i nivoa anksioznosti merene GAD-7 skalom. Nije utvrđena značajna povezanost između anksioznosti i vrednosti teksturalne varijanse jedra neutrofilnih granulocita. U ovoj studiji takođe nije utvrđena statistički značajna korelacija između anksioznosti i teksturalne korelacije jedra kao parametra GLCM analize. Kada su u pitanju rezultati vezani za emocionalnu regulaciju, nije utvrđena statistički značajna povezanost između nivoa kognitivne preformulacije kao i emocionalne supresije ni sa jednim GLCM indikatorom jedarne strukture neutrofilnih granulocita.

Intenzitet fizičke aktivnosti nije bio u statistički značajnoj korelaciji sa GLCM parametrima jedarne strukture neutrofilnih granulocita periferne krvi. Nije detektovana statistički značajna povezanost između umerenog i visokog intenziteta fizičke aktivnosti i indikatora teksturalne homogenosti i uniformnosti jedra. Takođe, u rezultatima ove studije nije utvrđena statistički značajna povezanost između umerenog i visokog intenziteta fizičke aktivnosti i parametara teksturalne homogenosti, kontrasta i varijanse hromatina neutrofilnih granulocita.

U ovoj studiji istraživači su predložili i tri modela mašinskog učenja koji imaju potencijalnu primenu u predikciji anksioznosti i mentalnog stresa na osnovu GLCM indikatora jedarne strukture neutrofilnih granulocita periferne krvi.

Prvi model je zasnovan na regresor algoritmu „slučajnih šuma“, (engl. „*random forest regressor*“), zatim model zasnovan na takozvanom “Gradient Boosting” regresorskom (GBR) algoritmu i model algoritam regresora mašine sa potpornim vektorima (engl. „*Support Vector machine Regressor*“, *SVR*). Od svih rezultata testova za procenu mentalnog distresa, model zasnovan na algoritmu „slučajnih šuma“ je pokazao najbolje procenite tačnosti prilikom predviđanja nivoa anksioznosti kvantifikovanog GAD-7 testom, dok su druga dva modela mašinskog učenja imali niže procenite tačnosti.

#### **D) Uporedna analiza doktorske disertacije sa rezultatima iz literature**

Rezultati antropometrijskih karakteristike ispitanika koji su dobijeni u studiji su u saglasnosti sa rezultatima studije koje su sproveli Zaccagni i saradnici (Zaccagni et al., 2014). Takođe, ispitanici u studiji su se prema referentnim vrednostima antropometrijskih karakteristika uklapali u opseg sa studentima istog pola i intenziteta fizičke aktivnosti po vrednostima telesne kompozicije iz rezultata naučne studije koja je urađena od strane Savengnago i saradnika (Savengnago et al., 2014). Analizom rezultata dobijenih antropometrijskim merenjima su zabeležene statistički visoko značajne razlike između svih antropometrijskih parametara ispitanika muškog i ženskog pola. Ovi rezultati su potpunosti u saglasnosti sa rezultatima naučnog istraživanja Bredella iz 2017. godine (Bredella, 2017).

U okviru ove doktorske disertacije na osnovu analize skorova za intenzitet fizičke aktivnosti i skala mentalnog distresa kroz 3 upitnika, istraživana je njihova povezanost. Nije dobijena statistička značajna korelaciju niti povezanost različitih intenziteta fizičke aktivnosti i mentalnog distresa. Rezultati ove studije su u saglasnosti sa rezultatima Wu-a i saradnika, koji su u svojoj naučnoj studiji pokazali da nije bilo povezanosti između različitih intenziteta fizičke aktivnosti i parametara emocionalne regulacije kod studenata (Wu et al., 2022). Međutim, rezultati se razlikuju od rezultata istraživanja Wanga i saradnika (Wang et al., 2022). Rezultati ove naučne studije na 826 studenata su ukazali na to da je postojala statistički značajna povezanost između intenziteta fizičke aktivnosti i stepena emocionalne regulacije.

Takođe, rezultati studije se razlikuju od rezultata drugih autora koji su istraživali povezanost fizičke aktivnosti i anksioznosti. U rezultatima ovih studija je dokazano da postoji negativna korelacija između stepena fizičke aktivnosti i GAD-7 skora, što nije u saglasnosti sa dobijenim rezultatima u ovoj studiji (Tian and Austin, 2022; Lewandowska et al., 2022; Ji et al., 2022).

Rezultati koje su istraživači ove studije dobili analizirajući povezanost umerenog i visokog intenziteta fizičke aktivnosti i DASS-21 skora nisu bili u saglasnosti sa naučnim studijama Talapka i saradnika (Talapka et al., 2021), kao i Zhanga i saradnika (Zhang et al., 2022).

U obe naučne studije je pokazano da je se intenzitet fizičke aktivnosti direktno odražavao na skorove DASS-21 skale, što nije u korelaciji sa rezultatima ove studije. Studija koja se delimično slaže sa rezultatima ove doktorske disertacije je naučna studija Vaughan i saradnika (Vaughan et al., 2020). Oni su pokazali da je kod vrhunskih sportista veći skor depresivnosti, ali značajno manji skor anksioznosti i stresa nego kod pojedinaca koji se ne bave sportom.

S obzirom da je ovo prva studija koja je analizirala korelaciju umerenog i visokog intenziteta fizičke aktivnosti i strukturne organizacije neutrofilnih granulocita analizirane pomoću GLCM metode teksturalne analize kod sportista, uporedna analiza rezultata je rađena sa naučnim studijama koje su se bavile funkcionalnim, a ne morfološkim promenama neutrofilnih granulocita, te je ova analiza bila samo delimično uporediva. Sve studije su pokazale da umerena i visoko intenzivna fizička aktivnost dovode do funkcionalnih promena neutrofilnih granulocita, i drugih ćelija imunskog sistema, što nije bilo u skladu sa rezultatima koji su dobijeni u ovoj studiji (Adams et al., 2011; Shanely et al., 2013; Jensen et al., 2019; Curi et al., 2020).

U ovoj studiji je pokazano da su neki od GLMC parametara strukture hromatina u neutrofilima povezani sa nivoima mentalnog distresa kod sportista. Rezultati povezanosti inverznog momenta razlike hromatina neutrofilnih granulocita i nivoa mentalnog distresa su u potpunosti bili u saglasnosti sa rezultatima Pantića i saradnika iz 2019. godine (Pantic et al., 2019). Osim ove naučne studije, u literaturi nema drugih podataka koji bi bili direktno uporedivi sa ovom doktorskom disertacijom. Autori su analizom rezultata studija koje su koristile istu tehniku teksturalne analize kako za strukturu hromatina, tako i drugih specifičnih morfoloških karakteristika ćelije, samo na drugim ćelijama, kao i naučnih studija koje su se pre svega bavile funkcionalnim promenama neutrofilnih granulocita u korelaciji sa mentalnim distresom, prezentovali rezultate koji su indirektno bili uporedivi sa rezultatima ovih studije, te su na taj način obrazložili opravdanost i dobijene rezultate istraživanja (Pantic et al., 2013; Part et al., 2014; Demir et al., 2015; Martinović et al., 2018; Yamamoto et al., 2017; Jacobson et al., 2018; Dincic et al., 2020; Paunović et al., 2020; Tsai, 2021).

#### **E) Objavljen rad koji čini deo doktorske disertacije**

1. **Topalovic N, Mazic S, Nestic, D, Vukovic O, Cumic J, Laketic D, Stasevic Karlicic I, Pantic I. Association between Chromatin Structural Organization of Peripheral Blood Neutrophils and Self-Perceived Mental Stress: Gray-Level Co-occurrence Matrix Analysis.** *Microscopy and Microanalysis*, Cambridge University Press 2021; 27 (5): 1202–1208. (kategorija M21; IF: 4.099). doi: 10.1017/s143192762101240x

## **F) Zaključak (obrazloženje naučnog doprinosa)**

Doktorska disertacija „Povezanost strukturne organizacije hromatina neutrofilnih granulocita periferne krvi, mentalnog distresa i intenziteta fizičke aktivnosti sportista“ dr Nikole Topalovića, predstavlja originalni naučni doprinos i pruža nova saznanja o uticaju mentalnog distresa i različitog intenziteta fizičke aktivnosti na strukturne promene hromatina neutrofilnih granulocita periferne krvi u populaciji sportista. Studija je jedinstvena, jer teksturalna analiza hromatina pomoću GLCM metode u ovoj populaciji, i pod uticajem faktora mentalnog distresa i različitog intenziteta fizičke aktivnosti, do sada nije analizirana. Najveći naučni doprinos disertacije se ogleda u mogućnosti korišćenja računarskih indikatora teksturalne analize u cilju stvaranja modela mašinskog učenja koji bi u budućnosti teorijski mogli da se koriste za predikciju anksioznosti i mentalnog distresa ne samo u populaciji sportista, već i u ostalim populacionim grupama.

Ova doktorska disertacija je urađena prema svim principima naučnog istraživanja. Ciljevi su bili precizno definisani, naučni pristup je bio originalan i pažljivo izabran, a metodologija rada je bila savremena. Rezultati su pregledno i sistematično prikazani i diskutovani, a iz njih su izvedeni odgovarajući zaključci.

Na osnovu svega navedenog, i imajući u vidu dosadašnji naučni rad kandidata, komisija predlaže Naučnom veću Medicinskog fakulteta Univerziteta u Beogradu da prihvati doktorsku disertaciju dr Nikole Topalovića i odobri njegovu javnu odbranu radi sticanja akademske titule doktora medicinskih nauka.

Beograd, 07.07.2023. godine

Članovi komisije:

Prof. dr Sanja Mazić

---

Prof. dr Dejan Nešić

---

Prof. dr Ivana Stašević - Karličić

---

Mentori:

Prof. dr Igor Pantić

---

Prof. dr Olivera Vuković

---