

УНИВЕРЗИТЕТ У КРАГУЈЕВЦУ

МЕДИЦИНСКИ ФАКУЛТЕТ

ИЗБОРНОМ ВЕЋУ

ПРЕДМЕТ: ИЗВЕШТАЈ КОМИСИЈЕ ЗА ОЦЕНУ НАУЧНЕ ЗАСНОВАНОСТИ ТЕМЕ ДОКТОРСКЕ ДИСЕРТАЦИЈЕ

Комисија за оцену научне заснованости докторске дисертације кандидата **Др Јелене Кркељић** формирана на седници Изборног већа Медицинског факултета Универзитета у Крагујевцу од **07. 10. 2009.**, одлуком бр. **01-6024/3-7** у саставу:

1. Доц. др Владимир Љ. Јаковљевић, председник
2. Проф. др Душан Митровић, члан
3. Доц. др Михајло Јаковљевић, члан

разматрала је предлог теме докторске дисертације под називом **"Упоредна анализа ефеката селективних инхибитора фосфодиестеразе 5 (PDE5) на оксидациони стрес у изолованом срцу пацова"**. На основу увида у приложену документацију, Комисија подноси Изборном већу следећи

ИЗВЕШТАЈ

I. Биографски подаци

Кандидат Др Јелена Кркељић, испуњава све услове предвиђене Законом о високом образовању (члан 30) и Статутом Медицинског факултета (члан 151) за израду докторске дисертације.

а) Лични подаци

Кандидат Др Јелена Кркељић рођена је 14 .11.1978. године у Београду. Основну школу и средњу медицинску школу завршила је у Београду. Медицински факултет у Београду уписала је школске 1997/98, који је завршила 2004. године са просечном оценом 7.86 и тиме стекла звање доктора медицине. Специјализацију из ваздухопловне и космичке медицине завршила је на Војномедицинској академији и одбранила специјалистички испит 2005. године.

Последипломске магистарске студије, смер ЕКСПЕРИМЕНТАЛНА ФИЗИОЛОГИЈА уписала је школске 2004/2005. године на Медицинском факултету у Крагујевцу. Наредне школске године прелази на докторске академске студије истог смера, полаже све програмом предвиђене испите, као и усмени докторантски испит 2006. године..

Др Кркељић говори енглески и француски језик.

б) СПИСАК ПУБЛИКОВАНИХ РАДОВА Др ЈЕЛЕНЕ КРКЕЉИЋ

Референце међународног нивоа (M23):

1. Rudnjanin S, Arsic-Komljenovic G, Pavlovic M, **Vujnovic J**. Loss of consciousness as criterion of +Gz tolerance at Institute of Aviation Medicine MMA during +Gz acceleration selective test. Acta Phys Hun 2006; 93(4): 371-6
M23 – 3 бода

Референце националног нивоа (M52):

1. **Krkeljic J**, Cubrilo D, Zivkovic V, Vuletic M, Barudzic N, Jakovljevic V. The effects of different doses of vardenafil on coronary autoregulation in isolated rat heart. Serb J Exp clin Res 2009; 10(3): 103-8
M52 – 1.5 бод

Саопштења на међународним научним скуповима (M34):

1. **Krklejic J**, Djuric D, Zivkovic V, Vuletic M, Barudzic N, Jakovljevic V. The effects of different phosphodiesterase-5 (PDE5) inhibitors on oxidative stress in isolated rat heart. Second Congress of Physiological Sciences of Serbia with International Participation, Kragujevac Sep 17-20, 2009. Abstract Book: 153
M34 – 0.5 бодова
2. Zivkovic V, Djuric D, Vuletic M, **Krklejic J**, Jakovljevic V. The effects of different phosphodiesterase-5 (PDE5) inhibitors on coronary autoregulation in isolated rat heart. Second Congress of Physiological Sciences of Serbia with International Participation, Kragujevac Sep 17-20, 2009. Abstract Book: 162
M34 – 0.5 бодова

Укупан број бодова на основу објављених радова: 5.5

II. Подаци о предложеној теми

Предложена тема је из области истраживања физиологије кардиоваскуларног система, са посебним освртом на ефекте специфичних инхибитора фосфодиестеразе 5 (PDE5) на оксидациони стрес у изолованом срцу пацова.

а) Предмет рада

Планираним истраживањима у оквиру предложене теме докторске дисертације "**Упоредна анализа ефеката селективних инхибитора фосфодиестеразе 5 (PDE5) на оксидациони стрес у изолованом срцу пацова**" кандидат Др Јелена Кркељић би обухватила 144 пацова Вистар соја, мушког пола, старости 8 недеља, просечне телесне масе 180-200 гр, којима би се изоловало срце и перфундовало према модификованој техници изолованог ретроградно перфундованог срца по Langendorff-у, са константним параметром притиска у коронарним крвним судовима, док би коронарни проток био зависна варијабла. Истраживање ће бити подељено у дванаест (XII) експерименталних група. Експерименталне групе би биле:

I-IV након контролне серија перфузија 10, 20, 50, 200 nM силденафилом

V-VIII након контролне серија перфузија 10, 20, 50, 200 nM тадалафилом

IX-XII након контролне серија перфузија 10, 20, 50, 200 nM варденафилом

У узорцима коронарног венског ерфлеунта би се одређивали следећи параметри: индекс липидне пероксидације (мерен као TBARS), супероксид анион радикал (O₂⁻) и водоник пероксид (H₂O₂). У свакој експерименталној групи би било по 12 (дванаест) експерименталних животиња, док би у статистичкој обради података коришћена двофакторска анализа варијансе са поновљеним мерењима, као и Студентов Т-

тест за везане узорке. Сва истраживања ће бити спроведена у Лабораторији за експерименталну кардиоваскуларну физиологију Медицинског факултета Универзитета у Крагујевцу.

б) Научни циљ и основне хипотезе рада

Фосфодистеразе цикличних нуклеотида (PDEs) представљају велику фамилију изоензима, која је подељена у 12 до сада класификованих подфамилија, а чији је основни задатак у сигналној трансдукцији регулација интрацелуларне концентрације цикличних нуклеотида – цикличног аденозин монофосфата (сАМР) и цикличног гуанозин монофосфата (сГМР). Самим тим, ови ензими директно учествују у финалној модулатији свих целуларних одговора на екстрацелуларне стимулусе. Већина ензима из ових подфамилија показује већи афинитет према сАМР, док је сГМР у основи регулаторна компонента. Из овога се изузимају изоензими PDE5 и PDE6. Изоензими ових подфамилија фосфодиестераза се уобичајено називају "сГМР-специфичне" фосфодиестеразе. Назив је базиран на супстратној специфичности, која подразумева да имају високоафинитетно некаталитичко место за сГМР. Потентност инхибитора (специфичних и неспецифичних) за ПДЕ5 има следећи редослед: **варденафил > тадалафил > силденафил > запринаст > диниридамол > ИВМХ > цилостамид > теофилин > кофеин > ролитрам.**

Присуство PDE5 у васкуларном ендотелу није претерано испитивано након открића њене експресије у овом ткиву. Овај феномен се може објаснити чињеницом што је интензивно испитивана њена експресија у васкуларном глатком мишићу, а он са васкуларним ендотелом представља нераскидиву целину у одржавању хемодинамске хомеостазе. Ипак, неке експерименталне и клиничке студије су можда и несвесно дотакле проблем управо ендотелне PDE5, испитијући ефекте специфичних PDE5 инхибитора.

Из васкуларног глатког мишића су иницијално изоловане три изоформе фосфодиестеразе: PDE1, PDE4 и PDE5, што је касније употпуњено сазнањем да је поред њих у васкуларном глатком мишићу присутна такође и PDE3. PDE5 је нађена примарно у солубилној фракцији васкуларног глатког мишића. Она представља главни изоензим ове фамилије, поред PDE1, који регулише концентрацију сГМР-а у хуманом васкуларном глатком мишићу. Директан утицај на ниво сГМР у васкуларним глатким мишићима на тај начин има више ензимских система: оних који повећавају његову интрацелуларну концентрацију (нпр. L-arginin:NO систем преко система гуанилил циклазе (GC) и оних који је смањују (у првом реду PDE5A и/или PKG). Ова динамичка равнотежа представља једну од кључних карика у механизму контракције/релаксације васкуларне глатке мускулатуре.

Након револуције које је унела употреба силденафила у лечењу еректилне дисфункције, у последњих десет година је нагло порастао интерес за изучавање ефеката инхибитора PDE5. Главни узрок интензивног изучавања ефеката инхибитора PDE5 у кардиоваскуларном је појава одређених нежељених ефеката који су пратили, на првом месту, примену силденафила. Без обзира на ове иницијалне проблеме који су пратили увођење силденафила у клиничку праксу, данашње метаанализе показују да је учесталост нежељених "коронарних догађаја" и уопште кардиоваскуларних инцидената сведена на најмању могућу меру: 0.8 % код примене Viagra® у поређењу са 0.5 % у односу на групу третирану плацебом, док је учесталост акутног инфаркта миокарда чак већа у контролној групи 0.2/0.1 %. Негтманн и сарадници су показали, такође, да примена силденафила код пацијената који су подвргнути перкутаној интракоронарној интервенцији са значајном стенозом најмање једне коронарне артерије (>70 %) статистички незначајно обара системски крвни притисак (<10 %), као и притисак у плућној циркулацији. С друге стране, применом силденафила (100 мг) и изосорбид-динитрата (10 мг) у напору током три дана долази до побољшања ендотел зависне дилатације брахијалне артерије, побољшања функционалних својстава миокарда током напора, са најбољим дејством изоловане примене силденафила.

Што се тиче примене силденафила са антихипертензивном терапијом, у више студија није уочена битна разлика код пацијената који су примењивали силденафил изоловано у поређењу са онима који су га комбиновали са неким видом антихипертензивне терапије. Број нежељених ефеката је био сличан у контролној и третираној групи (38 % у поређењу са 34 %). Није било значајних промена у срчаној фреквенци, као и значајних ортостатских ефеката, док хипотензивни ефекти нису били дозно зависни. Све у свему, силденафил није имао значајнијих ефеката на крвни притисак како групи пацијената третираних антихипертензивном терапијом, тако и код оних који нису примали ову врсту терапије.

Напротив, у последње време све је већи број експерименталних и клиничких студија које на велика врата потенцирају кардипротективни и антихипоксични ефекат силденафила. Неке од тих студија сугеришу неизоставну улогу L-аргинин/НО система у овом ефекту, док се улога оксидационог стреса у ефектима инхибитора ПДЕ на коронарну циркулацију веома стидљиво помиње у литератури, тако да је иницијална

студија Лабораторији за експерименталну кардиоваскуларну физиологију Медицинског факултета Универзитета у Крагујевцу из 2004. практично једна од пионирских.

ц) Материјал, и методе рада:

Експериментална група је добро одабрана, узорак је коректно формиран, а планирана методологија је савремена и адекватна

ц1) Експерименталне животиње.

Истраживање би обухватило 144 пацова Вистар соја, мушког пола, старости 8 недеља, просечне телесне масе 180-200 гр. Истраживање ће бити подељено у дванаест (XII) експерименталних група са по 12 животиња.

ц2) Методологија.

Након краткотрајне етарске наркозе, срца би се изоловала из грудног коша и постављала на апаратуру за испитивање изолованог срца Langendorff-у, на којој би се срце перфундовало према модификованој техници изолованог ретроградно перфундованог срца, са константним параметром притиска у коронарним крвним судовима, док би коронарни проток био зависна варијабла. Након калибрационог времена 30 минута, срце би се испитивало у контролним условима, а затим би се интракоронарно апликовали специфични инхибитори PDE5 и то:

I-IV након контролне серија перфузија 10, 20, 50, 200 nM силденафил

V-VIII након контролне серија перфузија 10, 20, 50, 200 nM тадалафил

IX-XII након контролне серија перфузија 10, 20, 50, 200 nM варденафил

У узорцима коронарног венског ерфлеунта би се одређивали следећи параметри: индекс липидне пероксидације (мерен као TBARS), супероксид анион радикал (O_2^-) и водоник пероксид (H_2O_2). У свакој експерименталној групи би било по 12 (дванаест) експерименталних животиња, док би у статистичкој обради података била коришћена двофакторска анализа варијансе са поновљеним мерењима, као и Студентов Т-тест за везане узорке. Сва истраживања би била спроведена у Лабораторији за експерименталну кардиоваскуларну физиологију Медицинског факултета Универзитета у Крагујевцу.

Студија се придржава свих одредаба Хелсиншке декларације о опхођењу са експерименталним животињама и биће пријављена Етичкој комисији за заштиту добробити огледних животиња Медицинског факултета Универзитета у Крагујевцу

д) Очекивани резултати

Кандидат у свом истраживању очекује да добије одговор на питање који од селективних инхибитора PDE5 има најизразитији ефекат на оксидациони стрес у изолованом срцу пацова, као и која доза појединог агенса има најизразитији ефекат. На овај начин кандидат даје велики допринос разјашњењу ефеката инхибитора PDE5 на коронарни крвоток, поготову са аспекта потенцијалног учешћа оксидационог стреса у нежељеним ефектима ових агенаса.

III Закључак и предлог Комисије

На основу података презентираних у тачкама I и II овог извештаја, Комисија доноси следећи

ЗАКЉУЧАК

1. На основу досадашњег научно-истраживачког рада и публикованих резултата кандидат **Др Јелена Кркељић** испуњава све услове за добијање теме и израду докторске дисертације.
2. Предложена тема је оригинална и научно оправдана са циљем испитивања кардиоваскуларног система, са посебним освртом на ефекте специфичних инхибитора фосфодиестеразе 5 (PDE5) на оксидациони стрес у изолованом срцу пацова. У прилог актуелности ове теме говоре контраверзни подаци у литератури о овим проблемима, посебно са аспекта дозом условљених ефеката појединих инхибитора PDE5.
3. Комисија са задовољством предлаже Изборном већу Медицинског факултета у Крагујевцу да прихвати пријаву теме докторске дисертације кандидата **Др Јелена Кркељић** под насловом "**Упоредна анализа ефеката селективних инхибитора фосфодиестеразе 5 (PDE5) на оксидациони стрес у изолованом срцу пацова**" и да одобри кандидату израду докторске дисертације.

Предлог ментора

За ментора рада Комисија предлаже Доц. др Владимира Љ. Јаковљевића, доцента Медицинског факултета у Крагујевцу.

У Крагујевцу
22. 12. 2009.

ЧЛАНОВИ КОМИСИЈЕ

Доц. др Владимир Љ. Јаковљевић – председник
Доцент Медицинског факултета у Крагујевцу
(Научна област: Физиологија)

Проф. Др Душан Митровић - члан
Ред. проф. Медицинског факултета у Београду
(Научна област: Физиологија)

Доц. др Михајло Јаковљевић - члан
Доцент Медицинског факултета у Крагујевцу
(Научна област: Фармакологија и токсикологија)
