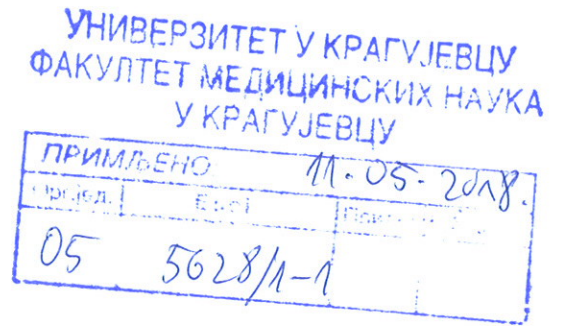


УНИВЕРЗИТЕТ У КРАГУЈЕВЦУ
ФАКУЛТЕТ МЕДИЦИНСКИХ НАУКА
НАСТАВНО-НАУЧНОМ ВЕЋУ



1. Одлука Већа за медицинске науке Универзитета у Крагујевцу

Одлуком Већа за медицинске науке Универзитета у Крагујевцу, број IV-03-247/37 од 04.04.2018. године, именовани су чланови Комисије за оцену научне заснованости теме докторске дисертације кандидата **Милоша Милосављевића** под називом:

“Фармаколошка анализа ефеката селективних инхибитора поновног преузимања серотонина на мотилитет хуманог јајовода”

Чланови комисије су:

- Проф. др Драган Миловановић**, редовни професор Факултета медицинских наука Универзитета у Крагујевцу за ужу научну област Фармакологија и токсикологија, председник
- Проф. др Слободан Јанковић**, редовни професор Факултета медицинских наука Универзитета у Крагујевцу за уже научне области Фармакологија и токсикологија и Клиничка фармација, члан
- Проф. др Радмила Величковић Радовановић**, ванредни професор Медицинског факултета Универзитета у Нишу за ужу научну област Фармација-Фармакокинетика, члан

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

2. Извештај о оцени научне заснованости теме докторске дисертације

Кандидат Милош Милосављевић 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

Милош Милосављевић је рођен у Приштини 1991. године. Гимназију, природно-математички смер, завршио је у Лепосавићу 2010. године као носилац Вукове дипломе.

Интегрисане академске студије фармације на Факултету медицинских наука Универзитета у Крагујевцу уписао је 2010. године. Дипломирао је јуна месеца 2015. године са просечном оценом 9,94. Током школске 2014/15. године био је стипендиста Фонда за младе таленте Министарства за омладину и спорт, које је стипендирало 800 најбољих студената завршних година студија. Докторске академске студије, смер Клиничка и експериментална фармакологија уписао је на Факултету медицинских наука Универзитета у Крагујевцу школске 2015/16. године. Усмени докторски испит положио је у јуну месецу 2017. године са оценом 10 (десет). Од 01. априла 2016. године ангажован је као стипендиста Министарства просвете, науке и технолошког развоја на пројекту ОИ 175007 “Фармаколошка анализа ефеката биолошки активних супстанци на изоловане глатке мишиће гастроинтестиналног и урогениталног тракта човека”. Говори енглески језик, поседује знање из различитих области рада на персоналним рачунарима.

2.2. Наслов, предмет и хипотеза докторске дисертације

Наслов: “Фармаколошка анализа ефеката селективних инхибитора поновног преузимања серотонина на мотилитет хуманог јајовода”

Предмет: Испитивање потенцијалног утицаја и механизма деловања карактеристичних представника селективних инхибитора поновног преузимања серотонина на спонтани мотилитет истмуса и ампуле хуманог јајовода, као и утврђивање разлика у ефектима који представници поменуте групе лекова имају на мотилитет, односно фазичке и тоничке контракције изолованог јајовода.

Хипотезе:

- Сви селективни инхибитори поновног преузимања серотонина утичу на спонтани мотилитет истмуса и ампуле хуманог јајовода.
- Утицај селективних инхибитора поновног преузимања серотонина на мотилитет хуманог јајовода се остварује преко мускаринских рецептора.
- Утицај селективних инхибитора поновног преузимања серотонина на мотилитет хуманог јајовода се остварује преко хистаминских рецептора.
- Утицај селективних инхибитора поновног преузимања серотонина на мотилитет хуманог јајовода се одвија преко серотонинергичких рецептора.
- Флуоксетин показује већи утицај на спонтану активност истмуса и ампуле хуманог јајовода од осталих представника селективних инхибитора поновног преузимања серотонина.

- Ефекат селективних инхибитора поновног преузимања серотонина је изразитији на спонтану активност него на тонус изолованих препарата хуманог јајовода

2.3. Испуњеност услова за пријаву теме докторске дисертације

Кандидат Милош Милосављевић објавио је рад у коме је први аутор у часопису категорије M23 који се публикује на једном од водећих светских језика, чиме је испунио услов за пријаву теме докторске дисертације:

- **Milosavljević MN, Janković SM, Pejčić AV, Milovanović JR, Opančina VD, Kostić MJ. Reslizumab versus placebo for poorly controlled, severe eosinophilic asthma: meta-analysis. Vojnosanit Pregl. 2018; doi: 10.2298/VSP161124013M. M23**

2.4. Преглед стања у подручју истраживања

Селективни инхибитори преузимања серотонина (*Selective Serotonin Reuptake Inhibitors, SSRIs*) чине групу хемијски разнородних антидепресивних лекова који специфично инхибирају преузимање доминантно серотонина у пресинаптичке нервне завршетке. Основну индикацију за примену *SSRIs* представља велика депресија, а потом, у наведеном домену следе и опсесивно-компулзивни поремећај, напади панике, генерализована анксиозност, пострауматски стресни поремећај, пременструални дисфорични поремећај, као и *bulimia nervosa* (флуоксетин). Поред поменутог флуоксетина, у ову групу лекова спадају и сертралин, пароксетин, флувоксамин, циталопрам и есциталопрам. Како се наведена група медикамената одликује малим афинитетом према мускаринским, адренергичким и хистаминским рецепторима, њихова примена није удружена са развојем нежељених ефеката карактеристичних за старије антидепресиве као што су ортостатска хипотензија, седација, сувоћа уста, замућење вида и слично. Међутим, појачано знојење, анксиозност, дигестивне тегобе, малаксалост, осећај умора, поремећај сексуалне функције, промена телесне тежине и поремећаји сна могу пратити примену поменутих лекова.

Ефекти селективних инхибитора поновног преузимања серотонина на глатке мишићне ћелије у извесној мери испитивани су на анималном моделу, углавном на коронарним артеријама зечева. Утврђено је да ова група лекова остварује вазодилататорни ефекат, обзиром да доводи до релаксације глатких мишићних ћелија, углавном захваљујући утицају на волтажно зависне јонске канале. Међутим, на пољу савремене медицине још увек недовољну познаницу представљају потенцијални ефекти које би *SSRIs* могли да имају на хумане глатке мишићне ћелије, нарочито на ћелије хуманог јајовода.

2.5. Значај и циљ истраживања

Обзиром на низ, и у доменима модерне медицине, и даље актуелних фармаколошких непознаница везаних за тематику ове докторске дисертације, постављени су следећи конкретни циљеви:

- Испитати потенцијални утицај селективних инхибитора поновног преузимања серотонина на мотилитет хуманог јајовода
- Испитати механизам утицаја селективних инхибитора поновног преузимања серотонина на мотилитет хуманог јајовода
- Анализирати разлике у дејству појединих селективних инхибитора поновног преузимања серотонина на мотилитет хуманог јајовода
- Анализирати разлике у ефектима селективних инхибитора поновног преузимања серотонина на тоничке и фазичке контракције изолованих јајовода

Сходно чињеници да је преваленција депресије код жена у генеративном периоду у константном порасту, као и да су селективни инхибитори преузимања серотонина углавном лекови примарног избора код ових пацијенткиња, резултати ове студије могу бити како од изузетног научног, тако и практичног значаја у домену релевантне процене потенцијалних ефеката ових лекова на мотилитет јајовода, али и њиховог утицаја на могуће зачеће код жена у репродуктивном периоду.

2.6. Веза истраживања са досадашњим истраживањима

Селективни инхибитори преузимања серотонина релаксирају интестиналне глатке мишићне ћелије утицајем на волтажне зависне канале за јоне натријума (Na^+), калијума (K^+) и калцијума (Ca^{2+}). У концентрацијама од 0,5-50 μM флуоксетин и циталопрам показују депресивне ефекте на Ca^{2+} и Na^+ канале, док у концентрацијама од 0,1-10 μM изазивају опуштање васкуларних и цревних глатких мишића. Прецизније, терапијске концентрације *SSRIs* блокирају Na^+ , K^+ и Ca^{2+} канале на глатким мишићним ћелијама. Такође, флуоксетин изазива дозно-зависне контракције глатке мускулатуре желуца, у првом реду фундуса, а потом и антрума и пилоруса, што указује на утицај флуоксетина на мускаринске, α -адренергичке и серотонинергичке рецепторе смештене у глаткој мускулатури желуца у извесној мери. Најновија истраживања показују да есциталопрам, сертралин и флувоксамин остварују снажан вазодилататорни ефекат блокадом K^+ канала смештених на коронарним артеријама, сходно чему је потребан посебан опрез приликом прописивања ових лекова код пацијената са кардиоваскуларним болестима.

Мада постоји извештај о напретку у погледу аналитичког приступа утицају лекова на глатке мишићне ћелије изолованих органа хуманог порекла, прецизнија истраживања

примарно базирана на потенцијалним ефектима које би *SSRIs* могли да имају на глатке мишићне ћелије хуманог јајовода, генерално, још увек оскудевају. Сходно наведеном, испитивање потенцијалног утицаја селективних инхибитора преузимања серотонина на мотилитет хуманог јајовода, као и механизма њиховог деловања, може бити како од значајног клиничког, тако и посебног научног значаја.

2.7. Методе истраживања

2.7.1. Врста студије

Експериментална студија на изолованим органима хуманог порекла.

2.7.2. Популација која се истражује

Истраживачку популацију ће чинити пацијенткиње хоспитализоване на Клиници за гинекологију и акушерство Клиничког центра у Крагујевцу са патохистолошки верификованим фибромом материце, а које ће бити подвргнуте поступку хистеректомије са аднексектомијом. За спровођење овог истраживања постоји сагласност Етичког одбора Клиничког центра у Крагујевцу (број 01/18-840).

Критеријуми за укључивање пацијенткиња у истраживање су следећи:

- Дијагноза фиброма утеруса (D25-тумор глатког мишића материце; D25.0-подслужнични тумор глатког мишића материце; D25.1-тумор глатког мишића зида материце; D25.2-тумор глатког мишића испод серозне опне материце; D25.9-тумор глатког мишића материце, неозначен.
- Индикован оперативни захват - хистеректомија са аднексектомијом
- Одсуство патолошких промена на јајоводима
- Одсуство инфекције хепатитис В и С као и HIV вирусом
- Изостанак примене хормоналне терапије у последња 3 месеца
- Потписан пристанак од стране пацијенткиње

Искључујући критеријуми су:

- Захваћеност јајовода патолошким процесом
- Хитне хируршке интервенције које спречавају безбедно узимање препарата
- Функционална неписменост пацијенткиње (због неразумевања информација намењених пацијенткињама пре пристанка за учествовање у студији)
- Трудноћа

2.7.3. Узорковање

За потребе истраживања биће коришћен “згодни” узорак консекутивног карактера. Релевантни хумани материјал биће узет од свих пацијенткиња које испуњавају поменуте критеријуме у периоду од 01.04.2018. до, најкасније, 01.04.2020. године (односно до прикупљања довољног броја препарата према калкулацији величине узорка).

2.7.4. Варијабле које се мере у студији

- Независне варијабле: пароксетин, сертралин, циталопрам, есциталопрам, флуоксетин, као представници блокатора поновног преузимања серотонина у чистој супстанци.
- Зависну варијаблу представља мотилитет (покретљивост) изолованих органа и интегрише мерење следећих аспеката:
 1. Величина тоничке контракције или релаксације препарата
 2. Фреквенција и амплитуда спонтаних контракција које се мере јединственом мером-површином испод криве која показује величину контракције у времену

Мерење зависне варијабле:

Органи пацијенткиња које ће дати пристанак за учешће у студију ће одмах након оперативног захвата (хистеректомија са аднексектомијом) бити постављани у суд испуњен *De Jalons*-овим раствором (154 mM NaCl, 5,95 mM NaHCO₃, 5,63 mM KCl, 0,54 mM CaCl₂*2H₂O, 2,78 mM глукоза) и оксигенисан (100% O₂, 5 ml/min), након чега ће бити пренети у лабораторију.

Петнаест минута након узимања хуманог јајовода из операционе сале изоловани препарати ће бити монтирани у специјалном купатилу за изоловане органе. Од јајовода пацијенткиња биће припремане две врсте препарата, препарати истмуса и препарати ампуле, према следећим димензијама: 4 cm дужина и 1,2 mm дебљина зида. Препарати ће у купатилу за изоловане органе бити монтирани по дужини, по методи *Magnus-a*. Препарати ће једним крајем бити причвршћени за базу купатила, а другим крајем за трансдјусер који претвара механичку енергију у електричну.

Препарати ће бити монтирани у купатилу за изоловане органе запремине 75 mL испуњеном *De Jalons*-овим раствором. Температура ће бити подешена на 37⁰C, а купатило ће бити оксигенисано (100% O₂). Тензија (напетост) изолованих препарата ће бити континуирано снимана помоћу изометријског сензора (трансдјусера) - *Palmer Bio Science, Los Angeles, CA, USA* и регистрована на компјутеру уз коришћење *Majk Electronic* софтвера и интерфејса (*Majk Electronic, Младеновац, Србија*).

Спонтане контракције изолованих препарата биће мерене као површина испод криве. Такође, биће мерени утицаји који експерименталне супстанце имају на површину испод

криве. На почетку сваког експеримента биће забележен најмање један сат спонтане активности изолованих препарата пре примене супстанци, како би се могле посматрати спонтане промене фазних контракција. Експерименталне супстанце биће додаване у купатило за изоловане органе кумулативно, без испирања купатила између наредних доза. Интервал између две суседне дозе ће увек бити 5 до 6 минута. После примене кумулативне дозе сваке од експерименталних супстанци, купатило ће се испирати три пута, док ће се изоловани препарат одмарати још наредних 30 минута. Ефекат шест различитих концентрација сваке експерименталне супстанце биће праћен на најмање 4 изолована препарата добијена од 4 различите пацијенткиње.

2.7.5. Снага студије и величина узорка

Величина групе је одређена на основу следећих почетних параметара: снага студије од 80%, вероватноћа грешке првог типа (α) од 0,05 за двосмерно тестирање хипотезе. Укупна величина узорка (*total sample size*) износи 15, а израчуната је на основу програма *G power* и коришћењем теста корелације (*Correlation: point biserial model*). Вредност коефицијента детерминације утврђена је на основу доступних литературних података из релевантних студија и износи 0,620. Ипак, обзиром на циљеве и значај студије, за потребе овог истраживања ће бити коришћен двоструко већи узорак, тако да ће препарати бити узети од 30 жена.

2.7.6. Статистичка анализа

Ефекат сваке концентрације експерименталне супстанце на спонтане контракције биће изражен као проценат максималног одговора добијеног са том експерименталном супстанцом, и биће коришћен за израду криве доза-одговор. Однос концентрације и одговора биће одређен линеарном регресијом између логаритамски трансформисаних концентрација супстанци и процента максималног одговора. Распон вредности који ће се користити за линеарну регресију биће од 15 до 85% од максималног одговора, у линеарном делу криве. Концентрације супстанце које проузрокују 50% максималног одговора (EC_{50}) и њихов интервал поверења ($1,96 \cdot$ стандардна грешка) биће утврђени графичком методом за сваку криву уз линеарну интерполацију. Значајност промена у фазној активности изолованих препарата биће тестирана једнофакторском анализом варијансе.

2.8. Очекивани резултати докторске дисертације

Ова докторска теза ће допринети адекватној верификацији фармаколошког утицаја представника селективних инхибитора преузимања серотонина на глатке мишићне ћелије изолованих препарата хуманог јајовода. Очекује се да ће ефекат селективних инхибитора

поновног преузимања серотонина на мотилитет јајовода бити значајан, као и да ће постојати разлика у ефектима између појединих припадника ове групе лекова.

2.9. Оквирни садржај докторске дисертације

Селективни инхибитори поновног преузимања серотонина (*SSRIs*) релаксирају глатке мишићне ћелије анималног порекла првенствено кроз блокаду волтажно зависних K^+ , Na^+ и Ca^{2+} канала, али и кроз одређене ефекте на мускаринске, алфа-адренергичке и серотонинергичке рецепторе. Ипак, још увек нису адекватно испитани потенцијални ефекти које би *SSRIs* могли да имају на хумане глатке мишићне ћелије, нарочито на ћелије хуманог јајовода.

Истраживање ће бити спроведено као експериментална студија на изолованим органима хуманог порекла. Истраживачку популацију ће чинити пацијенткиње које су хоспитализоване у оквиру Клиничког центра у Крагујевцу са дијагнозом фиброма материце, а које ће бити подвргнуте поступку хистеректомије са аднексектомијом. За потребе истраживања биће коришћен “згодни” узорак са консекутивним карактером. Узимаће се органи од свих пацијенткиња које испуњавају укључујуће и искључујуће критеријуме почевши од 01.04.2018. године све до прикупљања 30 препарата колико ће бити потребно за успешно спровођење овог истраживања. Препарати ће 15 минута након операције бити монтирани у купатилу за изоловане органе запремине 75 mL које ће бити испуњено *De Jalons*-овим раствором, оксигенисано (100% O_2) на температури од $37^{\circ}C$. Препарати ће једним крајем бити причвршћени за базу купатила, а другим крајем за трансдјусер који претвара механичку енергију у електричну. Спонтане контракције изолованих препарата биће мерене као површина испод криве. Такође, биће мерени утицаји који експерименталне супстанце имају на површину испод криве. Ефекат сваке концентрације експерименталне супстанце на спонтане контракције биће изражен као проценат максималног одговора добијеног са том експерименталном супстанцом, и биће коришћен за израду криве доза-одговор.

Очекује се да ће се у оквиру нашег истраживања показати да селективни инхибитори поновног преузимања серотонина остварују значајан утицај на мотилитет глатких мишићних ћелија хуманог јајовода, као и да постоји разлика у ефекту између појединих припадника ове групе лекова, што може бити од изузетног значаја приликом избора антидепресива код жена у репродуктивном периоду.

3. Предлог ментора

За ментора ове докторске дисертације предлаже се проф. др Марко Фолић, клинички фармаколог, ванредни професор Факултета медицинских наука Универзитета у Крагујевцу за

ужу научну област Клиничка фармација. 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

Проф. др Марко Фолић поседује стручне и научне квалификације у складу са предметом истраживања и планираним методолошким приступом. Компетентност ментора нарочито се огледа у значајном досадашњем искуству које проф. др Марко Фолић има у домену фармаколошких истраживања утицаја појединих супстанци на контрактилност глатких мишићних ћелија изолованих органа хуманог порекла:

- Jankovic SM, Jankovic SV, Djuric JM, **Folic MM**, Stojic I. Captopril may influence tone of human oviduct ampulla. J Clin Hypertens 2013; 15(10): 760.
- Janković SM, Djeković A, Bugarčić Z, Janković SV, Lukić G, **Folić M**, Canović D. Effects of aurothiomalate and gold(III) complexes on spontaneous motility of isolated human oviduct. Biometals 2012; 25(5): 919-25.
- Jankovic SM, Jankovic SV, Lukic G, Canovic D, **Folic M**. The contractile effects of endothelins on isolated isthmic segment of human oviduct at the luteal phase of the menstrual cycle. Methods Find Exp Clin Pharmacol. 2010; 32(2): 91-5.

4. Научна област дисертације

Медицина. Изборно подручје: Клиничка и експериментална фармакологија.

5. Научна област чланова комисије

1. **Проф. др Драган Миловановић**, редовни професор Факултета медицинских наука Универзитета у Крагујевцу за ужу научну област Фармакологија и токсикологија, председник
2. **Проф. др Слободан Јанковић**, редовни професор Факултета медицинских наука Универзитета у Крагујевцу за уже научне области Фармакологија и токсикологија и Клиничка фармација, члан
3. **Проф. др Радмила Величковић Радовановић**, ванредни професор Медицинског факултета Универзитета у Нишу за ужу научну област Фармација-Фармакокинетика, члан

ЗАКЉУЧАК И ПРЕДЛОГ КОМИСИЈЕ

На основу досадашњег научно-истраживачког рада и публикованих радова, кандидат Милош Милосављевић испуњава све услове за одобрење теме и израду докторске дисертације.

Предложена тема је научно оправдана и оригинална, дизајн истраживања је прецизно постављен и дефинисан, методологија је прецизна и јасна.

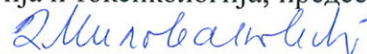
Комисија сматра да ће предложена докторска дисертација Милоша Милосављевића бити од великог научног и практичног значаја у домену релевантне процене потенцијалних фармаколошких ефеката лекова из групе селективних инхибитора поновног преузимања серотонина на мотилитет јајовода, али и њиховог утицаја на могуће зачеће код жена у репродуктивном периоду.

Комисија предлаже Наставно-научном већу Факултета медицинских наука Универзитета у Крагујевцу да прихвати тему докторске дисертације кандидата Милоша Милосављевића под називом **“Фармаколошка анализа ефеката селективних инхибитора поновног преузимања серотонина на мотилитет хуманог јајовода”** и одобри њену израду.

ЧЛАНОВИ КОМИСИЈЕ

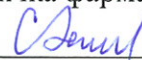
Проф. др Драган Миловановић

Редовни професор Факултета медицинских наука Универзитета у Крагујевцу
за ужу научну област Фармакологија и токсикологија, председник



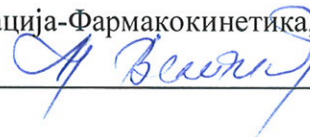
Проф. др Слободан Јанковић

Редовни професор Факултета медицинских наука Универзитета у Крагујевцу
за уже научне области Фармакологија и токсикологија и Клиничка фармација, члан



Проф. др Радмила Величковић Радовановић

Ванредни професор Медицинског факултета Универзитета у Нишу
за ужу научну област Фармација-Фармакокинетика, члан



Крагујевац, 16.04.2018. године