

1. Одлука Наставно-научног већа

Одлуком Наставно-научног већа Факултета медицинских наука Универзитета у Крагујевцу, број 01-12893/3-2, од 26. 11. 2014. године, именовани су чланови комисије за оцену научне заснованости теме докторске дисертације кандидата мр рн Невене Јеремић, под називом:

„Прекондиционарање изолованог срца исхемијом и инхибиторима протонске пумпе: ефекти на кардиодинамику и коронарни проток“

Чланови комисије су:

1. **Проф. др Слободан Новокмет**, ванредни професор Факултета медицинских наука Универзитета у Крагујевцу, за ужу научну област Фармацеутска биотехнологија, председник;
2. **Проф. др Владимир Јаковљевић**, редовни професор Факултета медицинских наука Универзитета у Крагујевцу, за ужу научну област Физиологија, члан;
3. **Проф. др Драган Ђурић**, редовни професор Медицинског факултета Универзитета у Београду, за ужу научну област Физиологија, члан.

2. Извештај комисије о подобности теме

2.1. Кратка биографија кандидата

Мр рн Невена Јеремић (рођена Баруцић) је рођена 27.06.1988. године у Крагујевцу, где је завршила основну школу "Станислав Сремчевић" а након тога и Прву крагујевачку гимназију. Интегрисане академске студије фармације уписала је школске 2007/08 године у Крагујевцу, а дипломирала јула 2012. године са просечном оценом 8,47.

Током студија од 2008. године је укључена у научно-истраживачки рад у оквиру лабораторије за Физиологију, Факултета медицинских наука у Крагујевцу, којом руководи Проф. др Владимир Јаковљевић. Учествовала је на више научних конгреса у земљи и иностранству.

Од августа 2013. године ради као сарадник у настави за ужу научну област Фармацеутска хемија на интегрисаним академским студијама фармације на Факултету медицинских наука у Крагујевцу.

Укључена на јуниор пројекат одобрен од стране Факултета медицинских наука под називом: "Евалуација ефеката различитих режима исхране на морфофункционалне карактеристике, маркере оксидативног стреса и инфламаторни одговор код пацијената са реуматоидним артритисом" (ЈП 01/14)

Докторске академске студије уписала је школске 2012/13 године на Факултету медицинских наука Универзитета у Крагујевцу, изборно подручје: Клиничка и експериментална фармакологија. Студент је треће године докторских академских студија. Положила је све програмом предвиђене испите на прве две године докторских академских студија, као и усмени докторантски испит са оценом 9 (девет). Говори енглески језик и познаје рад на рачунарима.

2.2. Наслов, предмет и хипотеза докторске дисертације

Наслов: „Прекондиционирање изолованог срца исхемијом и инхибиторима протонске пумпе: ефекти на кардиодинамику и коронарни проток“

Предмет: Испитивање и поређење заштитних ефеката прекондиционирања исхемијом и потенцијалних заштитних ефеката прекондиционирања инхибиторима протонске пумпе на изолованом срцу пацова које је претходно подвргнуто исхемији / реперфузији, са посебним освртом на улогу оксидационог стреса у овом феномену.

Хипотеза: Акутна примена инхибитора протонске пумпе може узроковати модификацију евентуалног штетног дејства исхемије на функционисање миокарда и коронарну циркулацију изолованог срца пацова. Прекондиционирање исхемијом може узроковати модификацију евентуалног штетног дејства исхемије на функционисање миокарда и коронарну циркулацију изолованог срца пацова. С’ обзиром на двофазни одговор миокарда на прекондиционирање, примена два различита типа прекондиционирања ће имати различите ефекте у различитим фазама овог феномена.

Подобност кандидата: Кандидат има 35 публикованих радова из области претклиничких и клиничких истраживања. 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:

Barudzic N, Turjacanin-Pantelic D, Zivkovic V, Selakovic D, Srejovic I, Joksimovic J, Djuric DM, Jakovljevic VLj. The effects of cyclooxygenase and nitric oxide synthase inhibition on oxidative stress in isolated rat heart. *Mol Cell Biochem.* 2013 Sep;381(1-2):313. **M23 – 3 бода**

2.3. Преглед стања у подручју истраживања

Од краја XX века се све већа пажња поклања објашњавању концепта исхемијског прекондиционирања. Посебно је значајна чињеница која се јавља од тада у литератури да појединачни или вишеструки кратки периоди исхемије миокарда, који производе реверзибилну повреду миоцита, могу да ограниче величину инфаркта и степен реперфузионе повреде после накнадног и дужег периода исхемије миокарда. Ови заштитни ефекти ИП на срце могу бити последица смањења генерисања реактивних кисеоничних врста, кашњења у ослобађању АТР-а, смањења: величине инфаркта, апоптозе и акумулације неутрофила, као и побољшање функције ендотела. Поред исхемијског прекондиционирања, што представља адаптивни одговор изазван кратким исхемијским

периодима примењеним пре дуже коронарне оклузије, постоји и прекондиционирање фармакотерапијом и примењује се такође пре дуже коронарне оклузије у циљу што боље адаптације миокарда на штетни стимулус.

Због постојања протонске пумпе у ткиву миокарда механичке и електричне особине се могу мењати коришћењем ИПП. Недавно, инхибитори протонске пумпе су показали и заштитне ефекте у лечењу исхемије миокарда код пацијената са обољењем коронарне артерије и гастроезофагеалног рефлукса.

Последњих година истраживања показују и да након оралне примене омепразола долази до значајног смањења продукције реактивних кисеоничних врста од стране неутрофила.

2.5. Значај и циљ истраживања

Значај студије

Ово истраживање би могло да донесе нове и до сада мало познате податке о активности ИПП унутар срца и кардиоваскуларног система уопште. Такође, студија би могла да помогне у разумевању ефеката прекондиционирања на оксидациони статус у кардиоваскуларном систему. Имајући у виду велики значај примене ове групе лекова у клиничкој пракси, одређивање утицаја на функционалне параметре миокарда може бити од значаја, поред осталог и као одлична основа за спровођење клиничких студија са овом медицинском тематиком.

Циљ и хипотезе студије

Главни циљ истраживања је процењивање ефеката акутне администрације инхибитора протонске пумпе, као и феномена прекондиционирања исхемијом на миокард и коронарну циркулацију изолованог срца пацова.

Главна хипотеза студије је да с' обзиром на двофазни одговор миокарда на прекондиционирање, примена два различита типа прекондиционирања ће имати различите ефекте у различитим фазама овог феномена.

2.6. Веза истраживања са досадашњим истраживањима

Повезаност инхибитора протонске пумпе, слободних радикала и кардиодинамике у оквиру кардиоваскуларног система је још веома слабо истражена. Такође, врло је интересантно да у доступној литератури нема података о активности и евентуалној улози ИПП у оксидационом стресу..

Имајући у виду клинички значај примене ИПП, од интереса је да се испита утицај ове групе лекова на функцију срца а посебно ових лекова као модела за фармаколошко прекондиционирање, затим и на параметре оксидационог стреса.

2.7. Методе истраживања

Врста студије

Студија припада експерименталним истраживањима *in vitro*.

Популација која се истражује

Планирано истраживање би обухватило 75 пацова (Wistar albino сој, мушки пол, старости 10 недеља, просечне телесне масе 200 ± 50 г) којима би се изоловало срце и перфундовало методом ретроградне перфузије по Лангендорфу (Langendorff apparatus, Experimetria Ltd, 1062 Budapest, Hungary) при константном коронарном перфузионом притиску од 70 cmH₂O. Састав Krebs-Henseleit раствора којим ће срце бити перфундовано следећег је садржаја (изражено у mM): NaCl 118, KCl 4.7, CaCl₂·2H₂O 2.5, MgSO₄·7H₂O 1.7, NaHCO₃ 25, KH₂PO₄ 1.2, глукозе 11, пирувата 2, а све је у равнотежи са 95 % O₂ и 5 % CO₂ на температури од 37 °C (pH 7.4).

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 етичности. Истраживање је одобрено дана 11.11. 2013. од стране Етичког одбора за заштиту добробити експерименталних животиња, Факултета Медицинских наука Универзитета у Крагујевцу, као и Етичког савета за заштиту добробити експерименталних животиња Републике Србије.

Материјал и методе

У студији је предложено пет (5) експерименталних група (15 животиња у групи): 1) контролна група - апликација физиолошког раствора (1 ml 0.9% NaCl, pH 7.4, i.p.), 2) експериментална група - група са прекондиционарањем исхемијом, 3) експериментална група - апликација омепазола (100µmol/l), 4) експериментална група - апликација пантопазола (100µmol/l), 5) експериментална група - апликација лансопазола (100µmol/l),

Све студијске групе прво ће бити подвргнуте периоду стабилизације у трајању од 30 минута на притиску од 70 cm воденог стуба. У контролној групи после периода стабилизације срца ће бити подвргнута глобалној исхемији (перфузија се потпуно зауставља) у трајању од 20 минута, потом ће следити период реперфузије у трајању од 30 минута. Дванаест срца из друге групе (групе са прекондиционарањем исхемијом) после периода стабилизације подлећи ће петоминутној глобалној исхемији и након тога опоравку од 10 минута после чега ће уследити глобална исхемија у трајању од 20 минута и реперфузиони период од 30 минута. Срца у експерименталним групама (групе са апликацијом ИПП) биће третирана на исти начин; после периода стабилизације уследиће петоминутно прекондиционарање ИПП у дози од 100µM а затим ће се успоставити глобална исхемија у трајању од 20 минута и након ње период реперфузије од 30 минута.

Како се инхибитори протонске пумпе у киселој средини претварају у своје активне форме, ми ћемо растворе ИПП које ћемо апликовати на изоловано срце направити у присуству хлороводоничне киселине која ће бити концентрације 10⁻³ M/l. Цитотоксичност примењене концентрације хлороводоничке киселине испитаћемо помоћу већ примењиване методе у свету на *Artemia salina* (мала вила шампи који живи у сланој води базена и сланим језерима и користи се као храна за акваријумске рибице).

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 би се одређивала флоуметријски.

Испитиване супстанце ће се апликовати континуираном перфузијом док се не постигне стабилни коронарни проток. У прикупљеним узорцима коронарног венског ефлуента спектрофотометријским методама ће се одређивати следећи параметри оксидационог стреса: индекс липидне пероксидације – мерен као TBARS, азот моноксид у форми нитрита (NO_2^-), супероксид анјон радикал (O_2^-), водоник пероксид (H_2O_2).

2.8. Очекивани резултати докторске дисертације

Добијени резултати биће од значаја јер ће послужити бољем разумевању феномена прекондиционарања у физиолошким условима као и фармаколошког прекондиционарања, што може бити од клиничког значаја. На основу добијених резултата моћи ће да се процени улога глобалне исхемије и исхемије изазване инхибиторима протонске пумпе на функцију миокарда, као и значај оксидационог стреса.

2.9. Оквирни садржај дисертације

Повезаност ИПП, слободних радикала и функционалних параметара у оквиру кардиоваскуларног система као и само поређење прекондиционарања исхемијом и ИПП је још веома слабо истражено. Имајући у виду клинички значај примене ове групе лекова, главни циљ ове студије је да испита утицај ИПП и саме исхемије на реперфузиону повреду и на оксидациони стрес, као и њихово међусобно поређење на изолованом срцу пацова. Планирано истраживање би било подељено у пет група. Процена ефеката примене ових супстанци на срчани мишић и коронарну циркулацију пацова вршиће се анализом кардиодинамских параметара леве коморе (dp/dt max, dp/dt min, SLVP, DLVP, HR) и величине коронарног протока. У узорима коронарног венског ефлуента би се спектрофотометријски мерила активност маркера оксидационог стреса. Ово истраживање би могло да донесе нове и до сада мало познате податке о феномену прекондиционарања исхемијом и инхибиторима протонске пумпе на оксидациони статус и функционалне параметре у кардиоваскуларном систему.

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. **Проф. др Слободан Новокмет**, ванредни професор Факултета медицинских наука Универзитета у Крагујевцу, за ужу научну област Фармацеутска биотехнологија, председник;
2. **Проф. др Владимир Јаковљевић**, редовни професор Факултета медицинских наука Универзитета у Крагујевцу, за ужу научну област Физиологија, члан;
3. **Проф. др Драган Ђурић**, редовни професор Медицинског факултета Универзитета у Београду, за ужу научну област Физиологија, члан.

Закључак и предлог комисије

1. На основу увида у резултате досадашње научно-истраживачке активности и публиковане радове мр рн Невене Јеремић 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 донесе нове и до сада мало познате податке о активности инхибитора протонске пумпе унутар кардиоваскуларног система као и о ефекатима исхемије / реперфузије, са посебним освртом на улогу оксидационог стреса у поменутом систему.
3. Комисија сматра да ће предложена докторска теза мр рн Невене Јеремић бити од великог научног, практичног и потенцијално клиничког значаја у смислу разумевања феномена прекондиционирања и врсти прекондиционирања у кардиоваскуларном систему.
4. Комисија предлаже Наставно-научном већу Факултета медицинских наука у Крагујевцу да прихвати пријаву теме докторске дисертације кандидата мр рн Невене Јеремић под називом „**Прекондиционирање изолованог срца исхемијом и инхибиторима протонске пумпе: ефекти на кардиодинамику и коронарни проток**“ и одобри њену израду.

Проф. др Слободан Новокмет, ванредни професор Факултета медицинских наука
Универзитета у Крагујевцу, за ужу научну област Фармацеутска биотехнологија

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

Проф. др Драган Ђурић, члан, редовни професор Медицинског факултета
Универзитета у Београду, за ужу научну област Физиологија

У Крагујевцу, 01. 12. 2014.