

УНИВЕРЗИТЕТ У КРАГУЈЕВЦУ
ФАКУЛТЕТ МЕДИЦИНСКИХ НАУКА
НАСТАВНО-НАУЧНОМ ВЕЋУ

ПРИМЉЕНО: 28. 12. 2017.			
Орг. јед.	Број	Датум	Кредитност
05	15885/7-7		

ОДЛУКА ВЕЋА ЗА МЕДИЦИНСКЕ НАУКЕ УНИВЕРЗИТЕТА У КРАГУЈЕВЦУ О
ФОРМИРАЊУ КОМИСИЈЕ ЗА ОЦЕНУ ЗАВРШЕНЕ
ДОКТОРСКЕ ДИСЕРТАЦИЈЕ

На седници Већа за медицинске науке Универзитета у Крагујевцу, одржаној 06.12.2017. године, одлуком бр. IV-03-1119/30 формирана је Комисија за оцену и одбрану завршене докторске дисертације под називом „Ефекти хиперхомоцистеинемije на параметре оксидационог стреса и активност ензима ацетилхолинестеразе у плазми и срцу пацова: улога гасних трансмитера (NO, H₂S и CO)” кандидата мр Душка Корњаче, у следећем саставу:

1. Проф. др Владимир Јаковљевић, редовни професор Факултета медицинских наука Универзитета у Крагујевцу за ужу научну област *Физиологија*, председник;
2. Проф. др Драган Ђурић, редовни професор Медицинског факултета Универзитета у Београду за ужу научну област *Физиологија*, члан;
3. Доц. др Иван Срејовић, доцент Факултета медицинских наука Универзитета у Крагујевцу за ужу научну област *Физиологија*, члан;

Комисија је прегледала и проучила докторску дисертацију кандидата мр Душка Корњаче и подноси Наставно-научном већу следећи

ИЗВЕШТАЈ

2.1. Значај и допринос докторске дисертације са становишта актуелног стања у одређеној научној области

Докторска дисертација кандидата мр Душка Корњаче под називом „Ефекти хиперхомоцистеинемije на параметре оксидационог стреса и активност ензима ацетилхолинестеразе у плазми и срцу пацова: улога гасних трансмитера (NO, H₂S и CO)”, урађена под менторством доц. др Владимира Живковића, доцента Факултета медицинских наука Универзитета у Крагујевцу за ужу научну област Физиологија, представља оригиналну научну студију која се бави испитивањем утицаја хиперхомоцистеинемije на редокс равнотежу и активност ензима ацетилхолинестеразе у плазми и срцу пацова, као и улоге гасних трансмитера (NO, H₂S и CO) у насталим променама.

Хомоцистеин, сулфхидрилна аминокиселина, представља интермедијерни метаболички продукт аминокиселине метионина. Не може се сматрати правом аминокиселином јер не улази у састав протеина. Сам процес из којег настаје хомоцистеин представља врло сложен биохемијски пут, који је беспрекорно регулисан. Овај процес добија на свом значају тек после сагледавања чињенице да он учествује у реметилационом циклусу, који доводи до поновне синтезе и обнављања метионина. Ензими који су укључени у метаболизам хомоцистеина нису равномерно заступљени у свим органима и ткивима. Највише ових ензима се налази у јетри. Повећане вредности хомоцистеина у организму - хиперхомоцистеинемija, у основи значи повећање како слободног тако и везаног хомоцистеина, дакле ради се о повећању концентрација укупног хомоцистеина. Присуство есенцијалне аминокиселине, метионина у организму сисара, се обезбеђује једино путем хране која је богата протеинима. На основу ове чињенице се може закључити да унос хране која је богата протеинима утиче на ниво хомоцистеина у крви. Прва истраживања која су била везана за одређивање нивоа хомоцистеина у крви су показала да се његова вредност пре и после уноса хране значајно разликује. Резултати великог броја експерименталних студија указују на могућност постојања повезности између хиперхомоцистеинемije и повећане склоности за појаву атерогенезе. Услед присуства повишених вредности хомоцистеина, у организму могу да се развију значајне патолошке промене, које захватају значајан део васкуларног система.

Појам оксидациони стрес указује на стање у коме настаје тежак поремећај између продукције реактивних врста и система заштите, а може бити последица: 1) смањења антиоксиданата или када неки токсични агенси негативно утичу на овај систем (висока концентрација ксенобиотика смањује GSH), или 2) повећања продукције ROS/RNS услед бројних токсина и спољних штетних утицаја или од стране ћелија имуног система (код хроничних инфламаторних болести). Оксидациони стрес може изазвати оштећење свих важних ћелијских биомолекула као што су ДНК, протеини и липиди. Међутим, није разјашњено која је прва мета напада због тога што се механизми настанка оксидативног оштећења преплићу.

Ацетилхолинестераза (AChE) је хидролаза која разлаже холинске естре. AChE се доминантно налазе у неуромишићној спојници и холинергичким синапсама у мозгу где имају превасходну сврху завршавања синаптичке неуротрансмисије. У току неуротрансмисије ацетилхолин (ACh) се ослобађа у синаптичку пукотину и везује за холинергичке рецепторе на постсинаптичкој мембрани преносећи сигнал из неурона. AChE која се налази на постсинаптичкој мембрани завршава трансмисију сигнала разграђујући (хидролизирајући) ACh. AChE има два активна места-ањонско и естарско. При интеракцији ACh и AChE долази до хидролизе ACh, ацетиловања естарског места AChE и ослобађање холина. Истраживања на говеђем срцу су показала да се овај ензим доминантно налази у спроводном систему срца и да је у свим аспектима сличан са AChE у нервном ткиву. Новије студије су показале да је AChE присутан и у контрактилном ткиву срца сисара, с тим што је већа концентрација овог ензима у коморама.

Гасотрансмитери су ендогени сигнални молекули који по хемијским карактеристикама припадају гасовима. Физиолошки најважнији ефекат имају азот моноксид (NO), угљен моноксид (CO) и водоник сулфид (H₂S).

Анализом резултата овог истраживања закључује се да акутна и субхронична хиперхомоцистеинемија изазивају смањење активности ацетилхолинестеразе у срцу пацова. Ови налази сугеришу да хомоцистеин путем дејства на AChE може да мења холинергичку контролу срчане функције односно да инхибицијом разградње ацетилхолина потенцира снажнији и дуготрајнији негативни холинергички ефекат на срце.

2.2. Оцена да је урађена докторска дисертација резултат оригиналног научног рада кандидата у одговарајућој научној области

Претрагом доступне литературе прикупљене детаљним и систематским претраживањем биомедицинских база података „Medline“ и „KoBSON“, уз коришћење одговарајућих кључних речи: „*hyperhomocysteinemia*“, „*acetylcholinesterase*“, „*oxidative stress*“, „*homocysteine*“, „*reactive oxygen species*“ и „*antioxidant enzymes*“, нису пронађене студије сличног дизајна и методолошког приступа. Сходно наведеном, Комисија констатује да докторска дисертација кандидата мр Душка Корњаче под називом „Ефекти хиперхомоцистеиније на параметре оксидационог стреса и активност ензима ацетилхолинестеразе у плазми и срцу пацова: улога гасних трансмитера (NO, H₂S и CO)“ представља резултат оригиналног научног рада.

2.3. Преглед остварених резултата рада кандидата у одређеној научној области

А. Лични подаци

Мр Душко Корњача је рођен 14.8.1985. године у Чајничу, Република Српска, Босна и Херцеговина. Медицински факултет Универзитета у Крагујевцу уписала је школске 1981/1982. године, а дипломирао на Медицинском факултету Универзитета у Бегорату фебруара 1987. године. Завршио специјализацију интерне медицине 2005. године, на Медицинском факултету у Фочи, а субспецијализацију из гастроентерологије и хепатологије 2010. године у Новом Саду.

Кандидат је аутор више оригиналних научних радова и први аутор у једном раду објављеном у часопису индексираним на *SCI* листи. Резултати рада наведени под редним бројем 1 саставни су део докторске дисертације, чиме је кандидат испунио услов за одбрану докторске дисертације.

У истраживању под називом „The effects of acute hyperhomocysteinemia induced by DL-homocysteine or DL-homocysteine thiolactone on serum biochemical parameters, plasma antioxidant enzyme and cardiac acetylcholinesterase activities in the rat“ у коме је кандидат први аутор представљен је део резултата саме докторске дисертације. Циљ овог истраживања је био да се испитају ефекти DL-хомоцистеина и DL-хомоцистеин тиолактона на биохемијске параметре у плазми, биомаркере оксидационог стреса и активност антиоксидационих ензима у плазми и активност ацетилхолинестеразе у

срчаном ткиву. На основу резултата овог истраживања закључује се DL-хомоцистеин и DL-хомоцистеин тиолактон испољавају прооксидативни ефекат и инхибирају активност ацетилхолинестеразе у миокарду, при чему DL-хомоцистеин има израженији ефекат. Резултати овог истраживања су публиковани у часопису категорије **M23** (Archives of Biological Sciences. 2017; doi: 10.2298/ABS170731041K)

У студији под називом „The effects of acute vibroacoustic microvibrations on the rat heart rate, rhythm and structure“ испитивани су ефекти виброакустичких микровибрација на фреквенцију, ритам и структуру срца пацова у физиолошким условима. У истраживању је коришћен апарат који производи микровибрације, *Vitafon-T* одређене фреквенције и амплитуде, и у складу са тим користили смо четири режима рада у којима смо испитивали ефекте микровибрација на ЕКГ карактеристике и структуру зида срца пацова. Резултати ове студије су показали да акутна примена виброакустичких микровибрација код пацова *in vivo* не утиче значајно на фреквенцију и ритам срчаног рада, повећава амплитуду R таласа у другом стандардном ЕКГ одводу за 25-32 % и не доводи до промена у структури зида срца пацова. Резултати овог истраживања су публиковани у часопису категорије **M52** (Ser J Exp Clin Res 2014; 15 (4): 191-196)

У истраживању под називом „The effects of vibroacoustically induced microvibrations on arterial blood pressure and oxidative stress in rats“ циљ је био да се испита утицај виброакустично индукованих микровибрација на артеријски крвни притисак и маркере оксидационог стреса у крви пацова. Анализом вредности систолног артеријског притиска после акутне примене виброакустичких микровибрација различитог режима деловања забележен је статистички значајан пад систолног артеријског притиска приликом примене другог режима у односу на контролу. Анализом вредности дијастолног артеријског притиска после акутне примене виброакустичких микровибрација различитог режима деловања није забележен статистички значајан пад дијастолног артеријског притиска нити у једном режиму деловања. Резултати овог истраживања су публиковани у часопису категорије **M52** (Ser J Exp Clin Res 2014; 15 (2): 83-88).

Б. Списак објављених радова (прописани минимални услов за одбрану докторске дисертације)

1. **Kornjača D**, Živković V, Krstić D, Čolović M, Đurić M, Stanković S, Mutavdžin S, Jakovljević V, Đurić D. The effects of acute hyperhomocysteinemia induced by DL-

homocysteine or DL-homocysteine thiolactone on serum biochemical parameters, plasma antioxidant enzyme and cardiac acetylcholinesterase activities in the rat. Arch Biol Sci 2017; doi: 10.2298/ABS170731041K. **M23**

2. **Kornjaca D**, Jakovljevic V, Zivkovic S, Djuric M, Puskas N, Djuric D. The effects of acute vibroacoustic microvibrations on the rat heart rate, rhythm and structure. Ser J Exp Clin Res 2014; 15 (4): 191-196. **M52**
3. **Kornjaca D**, Zivkovic V, Barudzic N, Jakovljevic V, Djuric D. The effects of vibroacoustically induced microvibrations on arterial blood pressure and oxidative stress in rats. Ser J Exp Clin Res 2014; 15 (2): 83-88. **M52**

2.4. Оцена о испуњености обима и квалитета у односу на пријављену тему

Сprovedено истраживање у потпуности је усклађено са пријављеном темом докторске дисертације. Циљеви истраживања и примењена методологија идентични су са одобреним у пријави тезе. Докторска дисертација мр Душка Корњаче садржи следећа поглавља: Увод, Хипотезе и циљеви истраживања, Материјал и методе, Резултати, Дискусија, Закључци и Литература. Написана је на 132 стране и има 8 табела, 24 графикона и 3 слике. Поглавље Литература садржи 227 цитираних библиографских јединица из иностраних и домаћих стручних публикација.

У уводном делу и теоретском разматрању, кандидат је на свеобухватан, јасан и прецизан начин и цитирајући релевантну литературу изложио актуелна сазнања о хемијским карактеристикама хомоцистеина, метаболичким путевима хомоцистеина, као и стањима везаним за поремећаје метаболизма хомоцистеина улози хиперхомоцистеиније у настајању атеросклерозе и коронарне болести. Такође, кандидат је навено основна и нова сазнања о оксидационом стресу, и антиоксидационој заштити, као и о ацетилхолинестерази и њеној улози у функцији срца.

Циљеви и хипотезе истраживања јасно су изложени и дефинисани у складу са одобреним приликом пријаве тезе. Кандидат је у свом раду намеравао да испита ефекате акутне (индуковане DL-хомоцистеином и DL-хомоцистеин тиолактоном) и субхроничне хиперхомоцистеиније (индуковане DL-хомоцистеином) на концентрацију прооксидативних и активност антиоксидативних маркера у плазми пацова, као и на активност ензима ацетилхолинестеразе у ткиву миокарда пацова.

Материјал и методологија рада су детаљно и прецизно формулисани и подударају се са одобреним приликом пријаве тезе. Истраживање је дизајнирано као експериментална студија са испитивањем анималног материјала *in vitro* и *ex vivo*. У циљу изазивања акутне хиперхомоцистеинемije поменути експерименталним групама је интраперитонеално администрирана једна доза DL-хомоцистеина (8 mmol/kg тм) и DL-хомоцистеин тиолактона (8 mmol/kg тм). Субхронична хиперхомоцистеинемija је изазвана апликацијом DL-хомоцистеина (0.45 μ mol/g тм. s.c., два пута дневно у интервалу од 8 сати, у периоду од четрнаест дана).

Резултати истраживања су систематично приказани и добро документовани табелама (укупно 8) и графиконима (укупно 24). Показано је да су акутна и субхронична хиперхомоцистеинемija повезане са снижењем активности ацетилхолинестеразе у срцу пацова. Ови налази сугеришу да хомоцистеин путем дејства на AchE може да мења холинергичку контролу срчане функције односно да инхибицијом разградње ацетилхолина потенцира снажнији и дуготрајнији негативни холинергички ефекат на срце. Блокада продукције NO и CO гасотрансмитера је била повезана са снижењем активности ацетилхолинестеразе. Ова сазнања индикују NO и CO сигнални путеви могу да имају улогу у модулацији активности овог ензима. На основу наших налаза се уочава да је овај ефекат био најизраженији у случају NO сигнализације. Редукција срчане AchE активности под утицајем хомоцистеина прелази у значајн пораст приликом заједничке апликације са инхибиторима производње гасотрансмитера. Ова сазнања индикују да потенцирање холинергичких дејстава хомоцистеина у срцу не само да престаје у условима одсуства деловања гасотрансмитера, већ постаје смањено захваљујући појачаној разградњи ацетилхолина.

У поглављу „Дискусија“ детаљно су објашњени резултати истраживања, тако што је појединачно образложени ефекти акутне и субхроничне хиперхомоцистеинемije на активност ензима ацетилхолинестеразе у срчаном мишићу пацова и оксидациони статус пацова, затим акутни ефекти инхибитора синтезе гасотрансмитера (L-NAME, PPR IX И DL-PAG) на активност ензима ацетилхолинестеразе у ткиву миокарда срца пацова и параметре оксидационог стреса у плазми пацова.

На основу претходно изнетих чињеница, Комисија сматра да завршена докторска дисертација кандидата мр Душка Корњаче под називом „Ефекти хиперхомоцистеинемije

на параметре оксидационог стреса и активност ензима ацетилхолинестеразе у плазми и срцу пацова: улога гасних трансмитера (NO, H₂S и CO)", по обиму и квалитету израде у потпуности одговара пријављеној теми дисертације.

2.5. Научни резултати докторске дисертације

На основу резултата истраживања могу да се изведу закључци да: акутна и субхронична хиперхомоцистеинија изазвају смањење активности ацетилхолинестеразе у срцу пацова, акутно примењени основни облик хомоцистеина изазива несигнификатно повећање активности CAT и GPx, док токсични тиолактон облик евидентно и снажно стимулише појачану мобилност оба поменута ензима, акутна блокада синтезе NO и H₂S је повезана са смањењем липидне пероксидације и повећањем активности испитиваних ензима антиоксидационе заштите.

2.6. Примењивост и корисност резултата у теорији и пракси

Добијени резултати истраживања дају оригиналан и битан допринос разумевању улоге ацетилхолинестеразе у функцији миокарда у условима хиперхомоцистеиније, као и у условима смањења доступности појединих гасотрансмитера, чиме се отвара низ могућности за испитивање шире клиничке примене, имајући у виду значај хомоцистеина у настајању патолошких ентитета везаних за кардиоваскуларни систем. Такође, резултати овог истраживања доприносе разумевању патофизиолошких збивања у миокарду која настају услед повишених вредности хомоцистеина.

2.7. Начин презентирања резултата научној јавности

Резултати ове студије публиковани су као оригинално истраживање у часопису индексираном на SCI листи (категорија M23).

1. **Kornjača D, Živković V, Krstić D, Čolović M, Đurić M, Stanković S, Mutavdžin S, Jakovljević V, Đurić D.** The effects of acute hyperhomocysteinemia induced by DL-homocysteine or DL-homocysteine thiolactone on serum biochemical parameters, plasma antioxidant enzyme and cardiac acetylcholinesterase activities in the rat. Arch Biol Sci 2017; doi: 10.2298/ABS170731041K. **M23**

ЗАКЉУЧАК

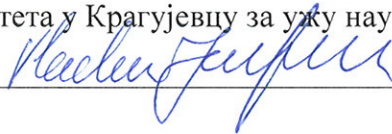
Комисија за оцену и одбрану завршене докторске дисертације кандидата мр Душка Корњаче под називом „Ефекти хиперхомоцистеинемije на параметре оксидационог стреса и активност ензима ацетилхолинестеразе у плазми и срцу пацова: улога гасних трансмитера (NO, H₂S и CO)“ сматра да је истраживање у оквиру тезе базирано на актуелним сазнањима и валидној методологији и да је прецизно и адекватно постављено и спроведено.

Комисија сматра да докторска дисертација кандидата мр Душка Корњаче, под менторством доц. др Владимира Живковића, представља оригинални научни допринос у испитивању ефеката хиперхомоцистеинемije на кардиоваскуларни систем.

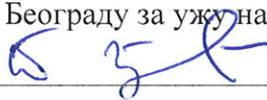
Комисија са задовољством предлаже Наставно-научном већу Факултета Медицинских наука Универзитета у Крагујевцу да докторска дисертација под називом „Ефекти хиперхомоцистеинемije на параметре оксидационог стреса и активност ензима ацетилхолинестеразе у плазми и срцу пацова: улога гасних трансмитера (NO, H₂S и CO)“, кандидата мр Душка Корњаче буде позитивно оцењена и одобрена за јавну одбрану.

ЧЛАНОВИ КОМИСИЈЕ:

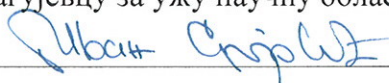
Проф. др Владимир Јаковљевић, редовни професор Факултета медицинских наука
Универзитета у Крагујевцу за ужу научну област *Физиологија*, председник



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



Доц. др Иван Срејовић, доцент Факултета медицинских наука Универзитета у
Крагујевцу за ужу научну област *Физиологија*, члан



У Крагујевцу, 12.12.2017. године