

УНИВЕРЗИТЕТ У КРАГУЈЕВЦУ
ФАКУЛТЕТ МЕДИЦИНСКИХ НАУКА
НАСТАВНО-НАУЧНОМ ВЕЋУ

**1. ОДЛУКА НАСТАВНО-НАУЧНОГ ВЕЋА О ФОРМИРАЊУ КОМИСИЈЕ ЗА ОЦЕНУ
ЗАВРШЕНЕ ДОКТОРСКЕ ДИСЕРТАЦИЈЕ**

На седници Наставно-научног већа Факултета медицинских наука Универзитета у Крагујевцу, одржаној дана 24. 06. 2015. године, одлуком бр. 01-6526/3-10 формирана је Комисија за оцену и одбрану завршене докторске дисертације под називом "Прекондиционирање изолованог срца исхемијом и инхибиторима протонске пумпе: ефекти на кардиодинамику и коронарни проток" кандидата мр рh Невене Јеремић, у следећем саставу:

1. Проф. др Слободан Новокмет, ванредни професор Факултета медицинских наука Универзитета у Крагујевцу за ужу научну област Фармацеутска биотехнологија, председник;
2. Доц. др Марко Фолић, доцент Факултета медицинских наука Универзитета у Крагујевцу за ужу научну област Клиничка фармација, члан;
3. Проф. др Драган Ђурић, редовни професор Медицинског факултета Универзитета у Београду за ужу научну област Физиологија, члан.

Комисија је прегледала и проучила докторску дисертацију Асс. мр рh Невене Јеремић и подноси Наставно-научном већу следећи

2. ИЗВЕШТАЈ

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

Докторска дисертација кандидата мр рн Невене Јерemiћ под насловом "Прекондиционарање изолованог срца исхемијом и инхибиторима протонске пумпе: ефекти на кардиодинамику и коронарни проток" представља једну од првих студија у свету која се бавила новим приступом у испитивању улоге лекова из групе инхибитора протонске пумпе на кардиоваскуларни систем, посебно са аспекта улоге ових лекова у феномену прекондиционарања као и потенцијалне улоге оксидационог стреса у исхемијско-реперфузионој повреди.

Већ дуго година уназад већа пажња се поклања објашњавању концепта исхемијског прекондиционарања (ИП). 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 прекондиционарања, што представља адаптивни одговор изазван кратким исхемијским периодима примењеним пре дуже коронарне оклузије, постоји и прекондиционарање 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 лекова из групе инхибитора протонске пумпе (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.

Исхемија миокарда (ИМ) је једна од главних узрочника обољења и смртности у целом свету. Приступи за могуће умањење дубоких и погубних ефеката на контрактилност миокарда су различити али најчешће обухватају коришћење тромболитичких агенаса, антагониста β -адренергичких рецептора, инхибитора ангиотензин конвертујућег ензима (АСЕ), коришћење антиоксиданаса, примену транслуминалне коронарне ангиопластике,

уградњу бајпаса коронарне артерије. Једна од ретких интервенција која је универзално прихваћена а и данас изазива велику пажњу од стране научног света је свакако феномен прекондиционирања срца исхемијом.

Иако тачан механизам који је одговоран за прекондиционирање није у потпуности расветљен, постоји све више доказа који указују на то да ендogene заштитне супстанце миокарда као што су аденозин, брадикинин, простагландин и азот моноксид (NO) могу играти централну улогу. Међутим, како и где се врши меморисање прекондиционирања остаје и данас мистерија.

АТР – зависни K^+ канали су се показали као важни кардиопротективни медијатори и првобитно је њихова кључна улога у прекондиционирању исхемијом претпостављена за сарколемалну K^+ - АТР-азу где долази до скраћивања акционог потенцијала да би се касније дошло до убедљивих доказа да су управо $mitoK_{ATP}$ канали одговорни за заштиту кардиомиоцита у феномену прекондиционирања.

Важност улоге азот моноксида (NO) у моделу прекондиционирања исхемијом утврђена је још крајем двадесетог века јер се сматра да је ослобађање азот моноксида повећано, а продукција супероксид радикала убрзана у раној фази реперфузије, а затим је показано и да NO веома лако ступа у реакцију са слободним радикалима формирајући пероксинитрит ($ONOO^-$), веома јак оксидант.

Оксидациони стрес има можда и најважнију улогу у механизмима прекондиционирања, јер студије показују да митохондријална дисфункција доприноси до старењем изазваних промена у срцу повећањем производње реактивних врста кисеоника (ROS) а на тај начин долази и до смањене толеранције на И/Р повреду, што резултира отварање митохондријалних транзиционих пермеабилних пора (mPTP).

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 испивање утицаја ове групе лекова на функцију срца а посебно ових лекова као модела за фармаколошко прекондиционирање, као и на параметре оксидационог стреса.

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

Прегледом литературе прикупљене детаљним и систематским претраживањем биомедицинских база података "Medline" и "Cochrane database of systematic reviews" помоћу следећих кључних речи: "proton pump inhibitors", "oxidative stress", "nitric oxide", "ischemic preconditioning", "isolated heart" и њиховом комбинацијом, утврђено је да до сада објављено свега пар студија у којима је процењиван значај улоге лекова из групе инхибитора протонске пумпе као фармаколошких агенаса у прекондиционирању миокарда као и да нема радова који се баве овим феноменом са аспекта улоге оксидационог стреса које су по форми и садржини идентична овој студији. На основу тога, Комисија констатује да докторска дисертација кандидата мр рh Невене Јеремић у наслову "Прекондиционирање изолованог срца исхемијом и инхибиторима протонске пумпе: ефекти на кардиодинамику и коронарни проток", представља резултат оригиналног научног рада на пољу истраживања у области физиологије и фармакологије кардиоваскуларног система.

2.3. Преглед остварених резултата рада кандидата у одређеној научној области

А. мр рh Невена Јеремић, сарадник у настави за ужу научну област Фармацеутска хемија Факултета медицинских наука Универзитета у Крагујевцу, аутор је или коаутор 15 (петнаест) научних радова из области базичне и примењене физиологије и фармакологије.

У првој студији је испитивана повезаност феталног дистреса и оксидационог стреса код 22 мајке и новорођенчади са феталним дистресом. Резултати ове студије су потврдили сумњу на постојање оксидационог стреса код мајки и новорођенчади са феталним дистресом, што може бити од изузетног значаја у планирању анти-оксидационе суплементације током трудноће и након порођаја. Ова студија је објављена у часопису категорије **M23** (*Oxid Med Cell Long* 2010; 3 (3): 214-8).

Друга студија имала је за циљ успостављање могуће корелације између редокс статуса и дужине тренажног процеса код адолесцената. Студија је обухватила 33 рукометаша, 14 дечака који се не баве спортом узраста од 16-19 година. Показано је да су аеробни капацитет као и ангажовање у спорту важни чиниоци у изазивању промена редокс равнотеже. Ова студија је објављена у часопису категорије **M23** (*Mol Cell Biochem* 2011; 351:251-9).

Трећа студија је проучавала корелацију између вон Вилебрандовог фактора (vWf), параметара оксидационог стреса и различитих облика акутног коронарног синдрома (АКС). Студија је обухватила 115 пацијената са различитим облицима АКС и сугерисала да vWf

може бити користан маркер у прогнози нежељених кардиоваскуларних догађаја, потврдила корисност анти-оксидационе суплементације код ових пацијената. Ова студија је објављена у часопису категорије **M23** (*Oxid Med Cell Longev* 2011; 2011:918312).

Наредно истраживање је имало задатак да упореди редокс статуса спортиста (58 младих рукометаша) и неспортиста (37 студената медицине), који су били подвргнути максималном прогресивном тесту оптерећења. Истраживање је указало на разлику у одговору на напор код спортиста и неспортиста и да перманентна физичка активност има велики утицај на редокс равнотежу. Ово истраживање је објављено у часопису категорије **M23** (*Gen Physiol Biophys* 2012; 31(2): 211-9).

У студији чији је циљ био да испита акутни и директни утицај различитих изоформи хомоцистеина на контрактилност, коронарни проток и оксидациони стрес изолованог срца пацова, је показано да L изоформа ове аминокиселине има најнегативнији утицај на кардиодинамику, као и да ефекти ових једињења на срце нису посредовани оксидационим стресом. Ова студија је објављена у часопису категорије **M23** (*Mol Cell Biochem* 2012; 370(1-2):59-67).

У студији која се бавила проучавањем утицаја спорт-специфичног и спорт-неспецифичног типа оптерећења на редокс статус спортиста, је закључено да краткотрајна и интензивна физичка активност потенцира оксидациони стрес, за разлику од спорт-специфичног тренинга (који обухвата и период загревања), што може бити значајно у правилном дозирању физичког оптерећења код спортиста. Ова студија објављена је у часопису категорије **M22** (*Oxid Med Cell Longev* 2012;2012:805850).

Наредно истраживање је имало за циљ да процени утицај шестомесечног тренажног програма на редокс статус младих фудбалера, узраста 12-13 година. На основу добијених резултата је сугерисано да програмирана физичка активност, слично као и у претходној студији има позитивне ефекте на редокс равнотежу. Ово истраживање је објављено у часопису категорије **M23** (*Acta Physiol Hun* 2013; 100(1): 64-76).

У студији која је испитивала акутни ефекат различитих COX инхибитора на оксидациони стрес изолованог срца пацова (са посебним освртом на L-аргинин/NO систем), је показано да од свих испитиваних облика COX инхибитора, аспирин једини узрокује појаву оксидационог стреса, што је вероватно последица блокаде синтезе NO. Ова студија је објављена у часопису категорије **M23** (*Mol Cell Biochem* 2013; 381(1-2):301-11).

Девета студија имала је за циљ са се утврди могући утицај DL-Нсу TLHC, самог или у комбинацији са специфичним инхибиторима важних гасотрансмитера као што су L-NAME, DL-PAG и PPR IX на кардиодинамске параметре, коронарни проток и оксидациони стрес изолованог срца пацова. Није пронађена повезаност између дисфункције миокарда и

оксидационог стреса након акутне апликације DL-Нсу TLHC. Ова студија је објављена у часопису категорије **M23** (*Biomed Res Int* 2013; 2013:318471).

Наредна студија имала је за циљ процену промене вредности прооксиданата и антиоксидационих ензима код пацијената да реуматоидним артритисом. Студија је обухватила 52 пацијента са РА и 30 здравих контрола. Закључак студије је да параметри оксидационог оштећења могу бити корисни у процењивању стања ових пацијената јер је у студији показан јачи одговор код пацијената са већом активношћу болести. Ова студија је објављена у часопису категорије **M23** (*Mol Cell Biochem* 2014; 391: 225-32).

Следећа студија испитивала је утицај цисплатине и још четири комплекса платине на кардиодинамику и коронарни проток изолованог срца пацова у дозми у распону од 10^{-8} до 10^{-4} . У овом раду показано је да цисплатина доводи смањења контрактилне силе миокарда, срчану фреквенцу као и коронарни проток док су три до преостала четири комплекса платине изазвали промене само вредности коронарног протока, што може бити значајно у разматрању потенцијално нових антитуморских агенаса. Ова студија је објављена у часопису категорије **M23** (*Cardiovasc Toxicol* 2015; 15:261-8).

У наредној студији циљ је био да се испита могућа улога NMDA рецептора у функцији миокарда изолованог срца пацова, као и могућа улога оксидационог стреса након претеране стимулације ових рецептора. Истраживање је обухватило три групе: акутна администрација DL-Нсу TLHC, акутна администрација комбинације DL-Нсу TLHC и МК-801 и акутна администрација само МК-801. Резултати ове студије указују на вероватне улоге NMDA рецептора у регулацији срчане функције и коронарне циркулације код изолованог срца пацова. Ова студија је објављена у часопису категорије **M23** (*Mol Cell Biochem* 2015; 15:261-8).

У овој студији циљ је био одредити параметре оксидационог стреса код пацијената са цереброваскуларним инсултом током различитих фаза праћења и наћи могућу везу између вредности ових биомаркера и клиничког исхода. Студија је обухватила 60 пацијената оба пола старије животне доби. Резултати указују да се као најрелевантнији ајувантни биомаркери највише истичу супероксид анјон радикал и азот моноксид у смислу праћења тока болести и оцене терапије. Ова студија је објављена у часопису категорије **M23** (*Mol Cell Biochem* 2015 406:75-81).

Ова студија имала је за циљ да се утврди оксидациони статус у динамици током еволуције фаза акутне бубрежне инсуфицијенције (АБИ). Студија је обухватила 69 пацијената са кардиоваскуларном патологијом и АБИ као и 30 здравих контрола. Пацијенти су праћени кроз три фазе АБИ. Прва фаза је била фаза дијагнозе, коју карактерише олигурија/анурија, друга фаза је успостављање диурезе, а трећа фаза је фаза полиурије.

Резултати су показали фазно-зависну модификацију код 3 параметра оксидационог статуса (TBARS, NO₂⁻ и GSH). Ова студија је објављена у часопису категорије **M23** (*Chin J Physiol* 2015; 58:124-33).

Циљ ове студије је био да се утврде могући протективни ефекти исхемијског прекондиционирања као и могући позитивни ефекти прекондиционирања миокарда омепразолем, леком из групе инхибитора протонске пумпе на моделу изолованог срца пацова. Резултати указују да је на основу промена кардиодинамских параметара, исхемијско прекондиционирање могуће користити као први „прозор“ одбране од исхемијско-реперфузионе повреде, док омепразол доводи до изненадног опоравка али са позитивним исходом по миокард. Ова студија указује на могуће разматрање омепразола као фармаколошког прекондиционарајућег агенса када исхемијско прекондиционирање није могуће. Ова студија је објављена у часопису категорије **M23** (*Rev Bras Cir Cardiovasc* 2015; 30:266-75).

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

1. Raicevic S, Cubrilo D, Arsenijevic S, Vukcevic G, Zivkovic V, Vuletic M, **Barudzic N**, Andjelkovic N, Antonović O, Jakovljevic V. Oxidative stress in fetal distress: Potential prospects for diagnosis. *Oxid Med Cell Long* 2010; 3: 214-8. **M23 – 3 бода**
2. Djordjevic D, Cubrilo D, Macura M, **Barudzic N**, Djuric D, Jakovljevic V. The influence of training status on oxidative stress in young male handball players. *Mol Cell Biochem* 2011; 351:251-9. **M23 – 3 бода**
3. Koprivica Z, Djordjevic D, Vuletic M, Zivkovic V, **Barudzic N**, Andjelkovic N, Djuric D, Iric-Cupic V, Krkeljic J, Jakovljevic V. Von Willebrand factor and oxidative stress parameters in acute coronary syndromes. *Oxid Med Cell Longev* 2011; 2011:918312. **M23 – 3 бода**
4. Djordjevic DZ, Cubrilo DG, **Barudzic NS**, Vuletic MS, Zivkovic VI, Nestic M, Radovanovic D, Djuric DM, Jakovljevic VLj. Comparison of blood pro/antioxidant levels before and after acute exercise in athletes and non-athletes. *Gen Physiol Biophys* 2012; 31:211-9. **M23 – 3 бода**
5. Zivkovic V, Jakovljevic V, Djordjevic D, Vuletic M, **Barudzic N**, Djuric D. The effects of homocysteine-related compounds on cardiac contractility, coronary flow, and oxidative stress markers in isolated rat heart. *Mol Cell Biochem*. 2012; 370(1-2):59-67. **M23 – 3 бода**
6. Djordjevic DZ, Cubrilo DG, Puzovic VS, Vuletic MS, Zivkovic VI, **Barudzic NS**, Radovanovic DS, Djuric DM, Jakovljevic VLj. Changes in Athlete's Redox State Induced

- by Habitual and Unaccustomed Exercise. *Oxid Med Cell Longev* 2012; 2012:805850. **M22 – 5 бодова**
7. Zivkovic V, Lazarevic P, Djuric D, Cubrilo D, Macura M, Vuletic M, **Barudzic N**, Nesic M, Jakovljevic V. Alteration in basal redox state of young male soccer players after a six-month training programme. *Acta Physiol Hun* 2013; 100(1): 64-76. **M23 – 3 бода**
 8. **Barudzic N**, Turjacanin-Pantelic D, Zivkovic V, Selakovic D, Srejovic I, Jakovljevic 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; 381(1-2):301-11. **M23 – 3 бода**
 9. Zivkovic V, Jakovljevic V, Pechanova O, Srejovic I, Joksimovic J, Selakovic D, **Barudzic N**, Djuric DM. Effects of DL-Homocysteine Thiolactone on Cardiac Contractility, Coronary Flow, and Oxidative Stress Markers in the Isolated Rat Heart: The Role of Different Gasotransmitters. *Biomed Res Int* 2013; 2013:318471. **M23 – 3 бода**
 10. Mirjana Veselinovic, **Nevena Barudzic**, Milena Vuletic, Vladimir Zivkovic, Aleksandra Tomic-Lucic, Dragan Djuric, Vladimir Jakovljevic Oxidative stress in rheumatoid arthritis patients: relationship to diseases activity. *Mol Cell Biochem* 2014; 391: 225-32. **M23 – 3 бода**
 11. Misic MM, Jakovljevic VL, Bugarcic ZD, Zivkovic VI, Srejovic IM, **Barudzic NS**, Djuric DM, Novokmet SS. Platinum Complexes-Induced Cardiotoxicity of Isolated, Perfused Rat Heart: Comparison of Pt(II) and Pt(IV) Analogues Versus Cisplatin. *Cardiovasc Toxicol* 2015; 15:261-8. **M23 – 3 бода**
 12. Srejovic I, Jakovljevic V, Zivkovic V, **Barudzic N**, Radovanovic A, Stanojlovic O, Djuric DM. The effects of the modulation of NMDA receptors by homocysteine thiolactone and dizocilpine on cardiodynamics and oxidative stress in isolated rat heart. *Mol Cell Biochem* 2015; 15:261-8. **M23 – 3 бода**
 13. Paspalj D, Nikic P, Savic M, Djuric D, Simanic I, Zivkovic V, **Jeremic N**, Srejovic I, Jakovljevic V. Redox status in acute ischemic stroke: correlation with clinical outcome. *Mol Cell Biochem* 2015 406:75-81. **M23 – 3 бода**
 14. Pesic S, Milinkovic M, Vuletic M, **Barudzic N**, Zivkovic V, Jakovljevic V, Djuric D, Stojimirovic B. Assessment of oxidative status in patients with acute kidney injury: a pilot study. *Chin J Physiol* 2015; 58:124-33. **M23 – 3 бода**
 15. **Jeremic N**, Petkovic A, Srejovic I, Zivkovic V, Djuric D, Jakovljevic V. Effects of ischemia and omeprazole preconditioning on functional recovery of isolated rat heart. *Rev Bras Cir Cardiovasc* 2015; 30:266-75. **M23 – 3 бода**

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

Наслов докторске дисертације и урађеног истраживања се поклапају. Циљеви истраживања идентични су са одобреним у пријави тезе.

Докторска дисертација мр рh Невене Јеремић, написана је на 121 страници и садржи следећа поглавља: Увод, Циљеве истраживања, Методе рада, Резултате, Дискусију, Закључке и Литературу. Рад садржи 10 табела, 5 слика, 50 графикана и 1 схему, док је у поглављу "Литература" цитирано 226 библиографских јединица из домаћих и иностраних стручних публикација.

У студији је анализирано 60 пацова (Вистар албино сој, мушки пол, старости 8 недеља, телесне масе $250 \pm 50g$) којима се изоловало срце и перфундовало методом ретроградне перфузије по Лангендорфу (Langendorff apparatus, Experimetria Ltd, 1062 Budapest, Hungary) при константном коронарном перфузионом притиску од $70 \text{ cm H}_2\text{O}$. Све експерименталне процедуре су урађене 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. Експериментални протокол је одобрен од стране Етичког одбора Факултета медицинских наука Универзитета у Крагујевцу.

Истраживање је било подељено у пет (5) експерименталних група (12 животиња у групи): 1) Експериментална група без икаквог прекондиционарања (контролна група), 2) Експериментална група са прекондиционарањем исхемијом, 3) Експериментална група са фармаколошким прекондиционарањем у виду апликације омепразола ($100 \mu\text{mol/l}$), 4) Експериментална група са фармаколошким прекондиционарањем у виду апликације пантопразола ($100 \mu\text{mol/l}$), 5) Експериментална група са фармаколошким прекондиционарањем у виду апликације лансопразола ($100 \mu\text{mol/l}$).

Вредност коронарног протока су одређиване флоуметријски. 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: а) $dp/dt \text{ max}$ - максимална стопа промене притиска у левој комори, б) $dp/dt \text{ min}$ - минимална стопа промене притиска у левој комори, в) SLVP - систолни притисак леве коморе, г) DLVP - дијастолни притисак леве коморе и њ) HR - срчана фреквенца.

Прва група представља контролну групу која је након стабилизације била подвргнута глобалној исхемији у трајању од 20 минута а потом се успоставио период реперфузије у трајању од 30 минута. Коронарни венски ефлуент је у контролној групи прикупљан у следећим тачкама експеримента: тачки стабилизације, првој тачки реперфузије након

двадесетоминутне исхемије као и на сваких 5 минута током периода реперфузије. Друга група представља групу којој је вршено прекондиционирање исхемијом у трајању од 2 минута глобалне исхемије и 4 минута реперфузије после чега је уследио период од 20 минута исхемије након чега почиње реперфузија од 30 минута. Коронарни венски ефлуент је у групи прекондиционирања исхемијом прикупљан у следећим тачкама експеримента: тачки стабилизације, првој тачки реперфузије након двоминутне исхемије и на сваки минут у току тих четири минута затим у првој тачки реперфузије након двадесетоминутне исхемије као и на сваких 5 минута током периода реперфузије. Последње три групе престављају фармаколошко прекондиционирање једним од лекова из групе инхибитора протонске пумпе у трајању од 5 минута након периода стабилизације, после прекондиционирања срца подлежу глобалној исхемији у трајању од 20 минута након чега наступа период реперфузије у трајању од 30 минута. Коронарни венски ефлуент је у групама фармаколошког прекондиционирања прикупљан у следећим тачкама експеримента: тачки стабилизације, првој тачки реперфузије након двадесетоминутне исхемије као и на сваких 5 минута током периода реперфузије.

У прикупљеним узорцима коронарног венског ефлуента спектрофотометријским методама су одређивани следећи параметри оксидационог стреса: индекс липидне пероксидације – мерен као TBARS, азот моноксид у форми нитрита (NO_2^-), супероксид анјон радикал (O_2^-), и водоник пероксид (H_2O_2).

У уводном делу кандидат је веома опсежно, јасно и прецизно, користећи најсавременије литературне податке изложио савремена сазнања о испитивању улоге исхемије и лекова из групе инхибитора протонске пумпе на кардиоваскуларни систем, посебно са аспекта улоге различитих биомаркера оксидационих оштећења у феномену прекондиционирања.

У другом поглављу јасно су изложени циљеви истраживања као и конкретни задаци који су у складу са постављеним циљевима: евалуација ефеката акутне администрације различитих лекова из групе инхибитора протонске пумпе као фармаколошких агенаса у моделу прекондиционирања на функционисање миокарда и коронарну циркулацију изолованог срца пацова; евалуација ефеката исхемије у моделу прекондиционирања на функционисање миокарда и коронарну циркулацију изолованог срца пацова; процењивање ефеката акутне администрације инхибитора протонске пумпе као фармаколошких агенаса у моделу прекондиционирања, као и феномена прекондиционирања исхемијом на миокард и коронарну циркулацију изолованог срца пацова; испитивање учешће различитих биомаркера оксидационог оштећења: нитрита (NO_2^-), супероксид анјон радикала (O_2^-), липидних пероксида (TBARS) и водоник пероксида (H_2O_2) на кардиодинамске параметре срчаног рада

и коронарну циркулацију при примени модела прекондиционарања исхемијом или инхибиторима протонске пумпе.

Материјал и методологија рада, подударни са наведеним у пријави дисертације, презентовани су на одговарајући начин и врло прецизно. Студијски узорак је чинило 60 пацова (Вистар албино сој, мушки пол, старости 8 недеља, телесне масе $250 \pm 50g$) којима се изоловало срце и перфундовало методом ретроградне перфузије по Лангендорфу (Langendorff apparatus, Experimetria Ltd, 1062 Budapest, Hungary) при константном коронарном перфузионом притиску од $70 \text{ cm H}_2\text{O}$. Све експерименталне процедуре су урађене 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. Експериментални протокол је одобрен од стране Етичког одбора Факултета медицинских наука Универзитета у Крагујевцу.

Истраживање је било подељено у пет (5) експерименталних група (12 животиња у групи): 1) Експериментална група без икаквог прекондиционарања (контролна група), 2) Експериментална група са прекондиционарањем исхемијом, 3) Експериментална група са фармаколошким прекондиционарањем у виду апликације омепразола ($100 \mu\text{mol/l}$), 4) Експериментална група са фармаколошким прекондиционарањем у виду апликације пантопразола ($100 \mu\text{mol/l}$), 5) Експериментална група са фармаколошким прекондиционарањем у виду апликације лансопразола ($100 \mu\text{mol/l}$).

Вредност коронарног протока је одређиван флоуметријски. Након успостављања стабилног срчаног рада, уклањањем леве преткоморе и прокидањем митралне валвуле омогућило се убацивање сензора (transducer BS4 73-0184, Experimetria Ltd, Budapest, Hungary) у леву комору ради директног и континуираног праћења параметара функције леве коморе: а) $dp/dt \text{ max}$ - максимална стопа промене притиска у левој комори, б) $dp/dt \text{ min}$ - минимална стопа промене притиска у левој комори, в) SLVP - систолни притисак леве коморе, г) DLVP - дијастолни притисак леве коморе и ђ) HR - срчана фреквенца.

Прва група представљала је контролну групу која је након стабилизације била подвргнута глобалној исхемији у трајању од 20 минута а потом се успоставио период реперфузије у трајању од 30 минута. Коронарни венски ефлуент је у контролној групи прикупљан у следећим тачкама експеримента: тачки стабилизације, првој тачки реперфузије након двадесетоминутне исхемије као и на сваких 5 минута током периода реперфузије. Друга група представљала је групу којој је вршено прекондиционарање исхемијом у трајању од 2 минута глобалне исхемије и 4 минута реперфузије после чега је уследио период од 20 минута исхемије након чега почиње реперфузија од 30 минута. Коронарни венски ефлуент је у групи прекондиционарања исхемијом прикупљан у следећим тачкама експеримента: тачки

стабилизације, првој тачки реперфузије након двоминутне исхемије и на сваки минут у току тих четири минута затим у првој тачки реперфузије након двадесетоминутне исхемије као и на сваких 5 минута током периода реперфузије. Последње три групе престављале су фармаколошко прекондиционирање једним од лекова из групе инхибитора протонске пумпе (омепразол, пантопрозол и лансопрозол) у трајању од 5 минута након периода стабилизације, после прекондиционирања срца су подлегла глобалној исхемији у трајању од 20 минута након чега је наступио период реперфузије у трајању од 30 минута. Коронарни венски ефлуент је у групама фармаколошког прекондиционирања прикупљан у следећим тачкама експеримента: тачки стабилизације, првој тачки реперфузије након двадесетоминутне исхемије као и на сваких 5 минута током периода реперфузије.

У прикупљеним узорцима коронарног венског ефлуента спектрофотометријским методама су одређивани следећи параметри оксидационог стреса: индекс липидне пероксидације – мерен као TBARS, азот моноксид у форми нитрита (NO_2^-), супероксид анион радикал (O_2^-), и водоник пероксид (H_2O_2).

Резултати истраживања систематично су приказани и добро документовани са 10 табела и 50 графикона. Показано је да: исхемијско прекондиционирање има најпозитивнији ефекат у остваривању у очувању перфузије миокарда и срчане фреквенце, док је прекондиционирање фармаколошким агенсима (лековима из групе инхибитора протонске пумпе) показало боље резултате у очувању оба параметра контрактилности. На тај начин, прекондиционирање исхемијом се може узети у обзир као први „прозор“ заштите миокарда, а прекондиционирање ИПП се може посматрати као адјувантни тип заштите миокарда пре свега у смислу очувања ударног волумена те ејекционе фракције. Обе врсте прекондиционирања су показале позитиван ефекат на функционални опоравак миокарда, с тим што је тај утицај у случају фармаколошког прекондиционирања био доминантанији на очување контрактилне силе, док је у случају исхемијског прекондиционирања ефекат био фокусиран на очување коронарне реактивности срца. Приликом међусобног поређења остварених ефеката испитиваних ИПП, најзначајнији позитивни ефекат на опоравак миокарда среће у случају омепразола и пантопрозола. Испитујући биохемијске маркере оксидационог оштећења нису уочене промене у смислу појачане продукције вредности било ког параметра. У односу на контролну групу и прекондиционирање исхемијом и лековима из групе ИПП показало је боље ефекте на функционални опоравак миокарда.

У поглављу дискусија анализирани су добијени резултати и поређени са литературним подацима из ове области. Коментари добијених резултата су језгровити, а начин приказивања података чини их прегледним и разумљивим.

На основу претходно изнетих чињеница, Комисија сматра да завршена докторска дисертација у наслову "Прекондиционирање изолованог срца исхемијом и инхибиторима протонске пумпе: ефекти на кардиодинамику и коронарни проток", по обиму и квалитету израде у потпуности одговара пријављеној теми дисертације.

2.5. Научни резултати докторске дисертације

Најзначајнији резултати истраживања садржани су у следећим закључцима:

1. Сумарно посматрано, исхемијско прекондиционирање је најпозитивнији ефекат остварило у очувању перфузије миокарда и срчане фреквенце, док је прекондиционирање фармаколошким агенсима (лековима из групе инхибитора протонске пумпе) показало боље резултате у очувању оба параметра контрактилности. На тај начин, прекондиционирање исхемијом се може узети у обзир као први „прозор“ заштите миокарда, а прекондиционирање ИПП се може посматрати као адјувантни тип заштите миокарда пре свега у смислу очувања ударног волумена те ејекционе фракције.
2. У том смислу, обе врсте прекондиционирања су показале позитиван ефекат на функционални опоравак миокарда, с тим што је тај утицај у случају фармаколошког прекондиционирања био доминантан на очување контрактилне силе, док је у случају исхемијског прекондиционирања ефекат био фокусиран на очување коронарне реактивности срца.
3. Приликом међусобног поређења остварених ефеката испитиваних ИПП, можемо закључити да се најзначајнији позитивни ефекат на опоравак миокарда среће у случају омепразола и пантопразола.
4. С обзиром да испитујући биохемијске маркере оксидационог оштећења нисмо уочили да је дошло до појачане продукције вредности било ког параметра, можемо хипотезирати да евентуални настанак реперфузионе повреде након прекондиционирања исхемијом и ИПП није посредован овим механизмом.
5. У односу на контролну групу и прекондиционирање исхемијом и лековима из групе ИПП показало је боље ефекте на функционални опоравак миокарда.

2.6. Примењивост и корисност резултата у теорији и пракси

Резултати ове студије недвосмислено указују да су дејства лекова из групе инхибитора протонске пумпе могу у будућности бити разматрани као потенцијални агенси у

моделу прекондиционирања миокарда како због њихове учестале примене тако и због веома захтевне и контроверзне примене исхемијског прекондиционирања.

2.7. Начин презентирања резултата научној јавности

Коначни резултати истраживања су публиковани до сада у часописима са међународном индексацијом, а планирано је и објављивање више радова као део оригиналног истраживања у часописима међународног значаја.

ЗАКЉУЧАК

Комисија за оцену и одбрану завршене докторске дисертације кандидата мр рh Невене Јеремиић под насловом "Прекондиционирање изолованог срца исхемијом и инхибиторима протонске пумпе: ефекти на кардиодинамику и коронарни проток" на основу свега наведеног, сматра да је истраживање у оквиру тезе засновано на савременим сазнањима и прецизно замишљеној методологији, и да је адекватно и прецизно спроведено. Добијени резултати су прегледни, јасни, добро продискутовани и дају значајан допринос у решавању актуелне и недовољно проучаване и третиране проблематике.

Комисија сматра да ова докторска дисертација кандидата мр рh Невене Јеремиић, урађена под менторством Проф. др Владимир Јаковљевића, представља оригинални научни допринос и од великог је научног и практичног значаја за изучавање улоге учестало примењиваних лекова из групе инхибитора протонске пумпе као фармаколошких агенаса у феномену прекондиционирања миокарда посебно са аспекта улоге оксидационог стреса у овом феномену.

Комисија са задовољством предлаже Наставно-научном већу Факултета медицинских наука Универзитета у Крагујевцу да докторска дисертација под називом "Прекондиционирање изолованог срца исхемијом и инхибиторима протонске пумпе: ефекти на кардиодинамику и коронарни проток" кандидата мр рh Невене Јеремиић буде позитивно оцењена и одобрена за јавну одбрану.

ЧЛАНОВИ КОМИСИЈЕ:

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

2. Доц. др Марко Фолић, доцент Факултета медицинских наука Универзитета у
Крагујевцу за ужу научну област Клиничка фармација
-

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

Крагујевац, 06. 07. 2015.