

1. Одлука Изборног већа

Одлуком Изборног већа Медицинског факултета Универзитета у Крагујевцу, број 01-4645/3-4, од 01. 07. 2011. године, именовани су чланови комисије за оцену научне заснованости теме докторске дисертације кандидата мр мед сци др Дренке Турјачанин-Пантелић, под називом:

„Ефекти ацетилсалицилне киселине на изоловано срце пацова: интеракција L-аргинин-NO система, циклооксигеназног система и оксидативног стреса“

Чланови комисије су:

1. **Проф. др Гвозден Росић**, председник, редовни професор Медицинског факултета Универзитета у Крагујевцу за ужу научну област Физиологија,
2. **Проф. др Владимир Јаковљевић**, члан, ванредни професор Медицинског факултета Универзитета у Крагујевцу за ужу научну област Физиологија,
3. **Проф. др Оливера Станојловић**, члан, ванредни професор Медицинског факултета Универзитета у Београду за ужу научну област Физиологија.

2. Извештај комисије о подобности теме

2.1. Кратка биографија кандидата

Дренка (Жарко) Турјачанин-Пантелић је рођена 16.11.1970. године у Новој Градишци, Хрватска. Медицински факултет у Загребу уписала је школске 1989. године, где је завршила прве две године. Дипломирала је прва у својој генерацији 12.10.1994. године на Медицинском факултету Универзитета у Београду са средњом оценом 8,28 (осам и двадесетосам) и оценом на дипломском испиту 10 (десет). Обавезан лекарски стаж је обавила током 1995. године у Клиничком центру Србије. Последипломске студије на Медицинском факултету Универзитета у Београду, смер "Хумана репродукција" уписала 1998.године. Запослена је на Институту за Медицинску физиологију Медицинског факултета Универзитета у Београду у звању асистента на Катедри Медицинске физиологије. Магистрирала је 08.03.2004. године на Медицинском факултету Универзитета у Београду. Дренка Турјачанин-Пантелић је и специјалиста гинекологије и акушерства. Специјалистички испит је положила 28.12.2007. године са оценом врло добар (4). Од октобра 2000.г. ради у Институту за Медицинску физиологију Медицинског факултета Универзитета у Београду прво у звању асистента приправника, а од 2005 г.као асистент за научну област Медицинска физиологија. У звање асистента је реизабрана 09.07.2009. Члан је Друштва физиолога Србије, Српског лекарског друштва (СЛД) Завршила Workshop on »Replacing animal use in teaching in Balkan Universities“ which was held at the School of Medicine, University of Belgrade. Учествовала на више конгреса из

области физиологије и репродуктивне медицине, а објавила је више научних радова из области физиологије имуног система. Била је стипендиста Министарства за науку, технологију и развој Србије 2000. године, као и сарадник на пројектима "Дејство адренергичких агенаса на мастоците и базофиле", Министарства науке, екологије и заштите животне средине, Владе Републике Србије. Руководилац: Проф Др Сенка Пантић и "Симпатичка нервна контрола имунских одговора", Министарства науке, екологије и заштите животне средине, Владе Републике Србије". Руководилац: Проф Др Војислав Пантић од 2002-2004. године

2.2. Наслов, предмет и хипотеза докторске дисертације

Наслов: „Ефекти ацетилсалицилне киселине на изоловано срце пацова: интеракција L-аргинин-NO система, циклооксигеназног система и оксидативног стреса“

Предмет: Испитивање ефеката селективних и парцијално селективних инхибитора циклооксигеназе на коронарну циркулацију изолованог срца пацова, посебно са аспекта интеракција L-аргинин-NO система, циклооксигеназног система и оксидативног стреса

Хипотеза: Основна хипотеза студије је да ацетилсалицилна киселина има протективни ефекат на изоловано срце пацова, посебно у условима исхемија/реперфузија, као и да је тај ефекат у директној спреси са функцијом L-аргинин-NO система и протекције од оксидативног стреса. Такође, наша хипотеза је да је овај кардипротективни ефекат бољи од ефеката селективних инхибитора COX-2.

2.3. Подобност кандидата

Кандидату је објављен један рад у целини за штампу у часопису са CC/SCI листе, у коме је први аутор, чиме је испунио услов за пријаву докторске тезе:

Turjačanin-Pantelić D, Pantić I, Pantić S, Garalejić E, Jović D, Arsić B. Effects of aspirin on the number of peripheral white blood cells and spleen eosinophils in guinea-pigs. *Acta veterinaria*. 2010;60(4):355-62. **M23=3 бода**

2.4. Преглед стања у подручју истраживања

Регулација циркулације представља једно од најинтересантнијих истраживачких поља у последњој деценији. Она генерално рефлектује интеракцију многих контролних механизма. У срцу, доминантну улогу играју два контролна механизма: миогени и метаболички контролни механизам. Уопштено говорећи, миогени контролни механизам је карактеристика већих крвних судова срца, док метаболички регулише пре свега проток малих крвних судова. Миогени тонус зависи од више фактора, што су потврдила и истраживања многих лабораторија. Један од фактора чине метаболити сва три метаболичка пута арахидонске киселине: циклооксигеназни, липооксигеназни и цитохром P-450 зависни. Недавно је показано да ови метаболити имају снажан утицај на васкуларни тонус, како у базалним, тако и у хипоксичним и хипероксичним условима, односно у условима оксидативног стреса. С друге стране све ове метаболите активира или модулира васкуларни ендотел. Montoya и сарадници су у свом истраживању показали да ендотел игра важну улогу у контроли васкуларног тонуса. L-аргинин-NO-систем, представља аутентични ендотелни контролни механизам контроле коронарног базалног тонуса, као и реактивна хиперемиа и коронарна ауторегулација. Азот-моноксид (NO) је важан

медијатор у остваривању реактивне хиперимије коронарних артерија, интерагујући са аденозином и хистамином, поготово у реактивној хиперимији индукованој краткотрајном (1-10s) коронарном оклузијом. NO показује модулаторне и контрарегулаторне ефекте на коронарну ауторегулацију изолованог срца.

Последњи феномен регулише више контролних механизма међу којима метаболички и миогени механизам имају доминантну улогу. У последњих неколико година, ендотелни контролни механизам, који је део метаболичке контроле, је био интензивно испитиван, тј. биорегулаторна улога L-аргинин-NO-система и његовог главног продукта - азот монооксида (NO). Ендотелни азот монооксид (NO), као важан ендогени регулатор коронарне циркулације се ствара уз помоћ ензима азот моноксид синтазе (NOS), из семи-есенцијалне аминокиселине L-аргинина. У кардиоваскуларном систему NO се ствара у ендотелним ћелијама и у миоцитима срца. NO је један од најважнијих, па самим тим и најактуелнијих васкуларних медијатора, чије пресудне улоге у бројним васкуларним догађајима (релаксација васкуларних глатких мишића, инхибиција адхезије и агрегације тромбоцита, инхибиција активације леукоцита, редукција миокардне потрошње кисеоника итд.) се непрекидно доказују и потврђују.

С друге стране, продукти циклооксигеназног метаболичког пута арахидонске киселине, имају важну улогу у контроли вазомоторног тонуса коронарних артерија. Главни метаболити овог метаболичког пута, простациклин (PGI_2) и тромбоксан (TXA_2) имају снажан утицај на васкуларну реактивност. У физиолошким условима њихов однос је 2.5 : 1 (PGI_2 : TXA_2) при чему остварују антагонистичка дејства пре свега на васкуларну резистенцију, артеријски проток и тромбоцитну активност. Простациклин (PGI_2) је потентни вазодилататор, антитромботични и антиагрегациони аутокоид (19). Насупрот њему, тромбоксан (TXA_2) се превасходно ствара у тромбоцитима и поседује потпуно супротан ефекат (најјачи вазоконстриктор у кардиоваскуларном систему, 50 пута јачи од ангиотензина II) у односу на PGI_2 . У ендотелној дисфункцији, овај однос пада са 2.5 : 1 на 1 : 1, што је један од круцијалних узрока у настанку артеријске тромбозе.

Неколико аутора је показало да инхибиција циклооксигеназе (COX) нема значајан утицај на коронарну ауторегулацију, изузев статистички незначајне вазоконстрикције при свим вредностима коронарног перфузионог притиска. Незнатно снижење cAMP је тешко објаснити, уколико знамо да је овај секундарни гласник одговоран за активност PGI_2 . Међутим, објашњење за ову динамику ослобађања cAMP лежи у отпуштању виских доза аденозина, чија је активност такође cAMP-зависна. Ова сазнања сугеришу да би инхибиција неког аутокоида (PGI_2), могла бити компензована повећаном продукцијом неког другог аутокоида, или његовим смањеним преузимањем у ћелије, што је једна од наших претпоставки.

2.5. Значај и циљ истраживања

Значај студије

Постојање евидентне улоге ових контролних механизма у коронарној ауторегулацији, пружа нам реалну могућност да претпоставимо да између њих постоји заједничко деловање, те би испитивање ефекта ове интеракције у контроли срчане контрактилности и коронарне циркулације, обзиром на оскудне литературне податке, био несумњиво значајан. Такође додатну ноту оригиналности овом истраживању би донела и анализа оксидативног статуса као важне карике у објашњењу потенцијалних резултата.

Циљ и хипотезе студије

Циљ студије би био да испита ефекте и механизме дејства ацетилсалицилне киселине на кардиодинамске параметре и коронарну ауторегулацију, посебно са аспеката интеракције L-аргинин-NO система, циклооксигеназног система и оксидативног стреса на изолованом срцу код пацова.

Основна хипотеза студије је да ацетилсалицилна киселина има протективни ефекат на изоловано срце пацова, посебно у условима исхемија/реперфузија, као и да је тај ефекат у директној спрези са функцијом L-аргинин-NO система и протекције од оксидативног стреса. Такође, наша хипотеза је да је овај кардипротективни ефекат бољи од ефеката селективних инхибитора COX-2.

2.6. Веза истраживања са досадашњим истраживањима

У последњих неколико година, ендотелни контролни механизам, који је део метаболичке контроле, је био интензивно испитиван, тј. биорегулаторна улога L-аргинин-NO-система и његовог главног продукта - азот монооксида (NO). Ендотелни азот моноксид (NO), као важан ендогени регулатор коронарне циркулације се ствара уз помоћ ензима азот моноксид синтазе (NOS), из семи-есенцијалне аминокиселине L-аргинина. С друге стране, продукти циклооксигеназног метаболичког пута арахидонске киселине, имају важну улогу у контроли вазомоторног тонуса коронарних артерија. Главни метаболити овог метаболичког пута, простаглицин (PGI_2) и тромбоксан (TXA_2) имају снажан утицај на васкуларну реактивност. У физиолошким условима њихов однос је 2.5 : 1 (PGI_2 : TXA_2) при чему остварују антагонистичка дејства пре свега на васкуларну резистенцију, артеријски проток и тромбоцитну активност. Неколико аутора је показало да инхибиција циклооксигеназе (COX) нема значајан утицај на коронарну ауторегулацију, изузев статистички незначајне вазоконстрикције при свим вредностима коронарног перфузионог притиска. Ова сазнања сугеришу да би инхибиција неког аутокоида (PGI_2), могла бити компензована повећаном продукцијом неког другог аутокоида, или његовим смањеним преузимањем у ћелије.

2.7. Методе истраживања

Врста студије

Експериментална студија.

Испитаници

Планирано истраживање би обухватило 90 пацова, Wistar соја, мушког пола, старости 8 недеља, просечне телесне масе 180-200 грама, којима би се изоловало срце и перфундовало према модификованој техници изолованог ретроградно перфундованог срца по Langendorff-у, са променама коронарног перфузионог притиска у опсегу од 40-120 cm H_2O .

Експериментални протокол је одобрен од стране Етичког одбора за добробит експерименталних животиња Медицинског факултета Универзитета у Крагујевцу.

Материјал и методе

Истраживање ће бити подељено у у шест (6) експерименталних група (сваку групу чини 12 пацова). Експерименталне групе би биле: а) контролна (перфузија комплексним Krebs-Hensenleit-овим физиолошким раствором), б) перфузија са 100 μM ацетилсалицилне киселине, в) перфузија са 30 μM L-NAME (инхибитор NO синтазе), г) перфузија са 0.3 μM и 3 μM мелоксикама (парцијални инхибитор циклооксигенате тип 2), д) перфузија са са 100 μM ацетилсалицилне киселине плус 30 μM L-NAME, њ) перфузија са 0.3 μM и 3 μM мелоксикама (парцијални инхибитор циклооксигенате тип 2) плус 30 μM L-NAME. Величина коронарне ауторегулације би се одређивала на основу вредности коронарног протока на сваком од задатих вредности перфузионог притиска. У узорцима коронарног венског ефлуента би се одређивали параметри оксидационог стреса: индекс липидне пероксидације (мерен као TBARS), супероксид ањон радикал (O_2^-) и водоник пероксид (H_2O_2), као и количина ослобођеног NO (мерен у облику нитрита) као маркера L-аргинин-NO-система. Сви наведени параметри би били мерени спектрофотометријски. Кардиодинамски параметри рада срца (dp/dt max, dp/dt min, SLVP, DLVP, HR, MBP) би се мерили софтверски посредством сензора који би се уводио у леву комору.

2.8. Очекивани резултати докторске дисертације

Очекује се да ће ацетилсалицилна киселина имати протективни ефекат на изоловано срце пацова, посебно у условима исхемија/реперфузија, као и да је тај ефекат у директној спреси са функцијом L-аргинин-NO система и протекцијом од оксидативног стреса. Такође, очекује се да је овај кардипротективни ефекат бољи од ефеката селективних инхибитора COX-2.

2.9. Оквирни садржај дисертације

Утврђивање интеракције L-аргинин-NO система, циклооксигеназног система и оксидативног стреса у регулацији коронарне циркулације изолованог срца пацова. Постојање евидентне улоге ових контролних механизма у коронарној ауторегулацији, пружа реалну могућност претпоставке да између њих постоји заједничко деловање, те би испитивање ефекта ове интеракције у контроли срчане контрактилности и коронарне циркулације, обзиром на оскудне литературне податке, био несумњиво значајан. Такође додатну ноту оригиналности овом истраживању би донела и анализа оксидативног статуса као важне карике у објашњењу потенцијалних резултата.

2.10. Предлог ментора

За ментора се предлаже **Проф. др Владимир Љ. Јаковљевић**, ванредни професор Медицинског факултета Универзитета у Крагујевцу за ужу научну област Физиологија.

2.11. Научна област дисертације

Медицина. Ужа област: Физиологија.

2.12. Научна област чланова комисије

- 1. Проф. др Гвозден Росић**, председник, редовни професор Медицинског факултета Универзитета у Крагујевцу за ужу научну област Физиологија,
- 2. Проф. др Владимир Јаковљевић**, члан, ванредни професор Медицинског факултета Универзитета у Крагујевцу за ужу научну област Физиологија,
- 3. Проф. др Оливера Станојловић**, члан, ванредни професор Медицинског факултета Универзитета у Београду за ужу научну област Физиологија.

Закључак и предлог комисије

1. На основу досадашњег научно истраживачког рада и публикованих радова, кандидат мр мед сци др Дренка Турјачанин-Пантелић испуњава све услове за одобрење теме и израду 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 развој новог приступа изучавању контролних механизма у регулацији коронарне циркулације.
3. Комисија сматра да ће предложена докторска теза мр мед сци др Дренке Турјачанин-Пантелић бити од великог научног и практичног значаја, да се прецизно одреди интеракција контролних механизма у регулацији коронарне циркулације и то: L-аргинин-NO система, циклооксигеназног система и оксидативног стреса. Посебну оригиналност овом истраживању доноси анализа оксидативног статуса као важне карике у објашњењу потенцијалних резултата.
4. Комисија предлаже Изборном већу Медицинског факултета у Крагујевцу да прихвати пријаву теме докторске дисертације кандидата мр мед сци др Дренке Турјачанин-Пантелић под следећим називом „**Ефекти ацетилсалицилне киселине на изоловано срце пацова: интеракција L-аргинин-NO система, циклооксигеназног система и оксидативног стреса**“ и одобри њену израду.

Проф. др Гвозден Росић, председник, редовни професор Медицинског факултета Универзитета у Крагујевцу за ужу научну област Физиологија.

Проф. др Владимир Јаковљевић, члан, ванредни професор Медицинског факултета Универзитета у Крагујевцу за ужу научну област Физиологија.

Проф. др Оливера Станојловић, члан, ванредни професор Медицинског факултета Универзитета у Београду за ужу научну област Физиологија.

У Крагујевцу, 12. 07. 2011.