


ПРИМЉЕНО		17.06.2024	
Орг. јед.	Ст.	Листа	Вредност
05	6492		

**НАСТАВНО-НАУЧНОМ ВЕЋУ
ФАКУЛТЕТА МЕДИЦИНСКИХ НАУКА У КРАГУЈЕВЦУ**

и

**ВЕЋУ ЗА МЕДИЦИНСКЕ НАУКЕ
УНИВЕРЗИТЕТА У КРАГУЈЕВЦУ**

На седници Већа за медицинске науке Универзитета у Крагујевцу одржаној 20.5.2024. године (број одлуке: 01-3607/7-12) одређени смо за чланове Комисије за оцену и одбрану докторске дисертације под насловом: „**Испитивање утицаја примене емпаглифлозина на репродуктивне и метаболичке карактеристике синдрома полицистичних јајника код пацова**”, кандидата **Дејане Ракић**, студента докторских академских студија Факултета медицинских наука, за коју су именован ментор **Јована Јоксимовић Јовић**, доцент.

На основу података којима располажемо достављамо следећи:

ИЗВЕШТАЈ

О ОЦЕНИ УРАЂЕНЕ ДОКТОРСКЕ ДИСЕРТАЦИЈЕ

1. Подаци о докторској дисертацији
1.1. Наслов докторске дисертације:
Испитивање утицаја примене емпаглифлозина на репродуктивне и метаболичке карактеристике синдрома полицистичних јајника код пацова
1.2. Опис докторске дисертације (навести кратак садржај са назнаком броја страница, поглавља, слика, шема, графикона, једначина и референци) (до 500 карактера):
Докторска дисертација садржи 136 страна, подељена је на седам поглавља (Увод, Циљеве и хипотезе, Материјал и методе, Резултате, Дискусију, Закључке и Литературу), цитирана је 281 референца. Дисертација садржи 56 графикона, 6 слика и 4 табеле. Циљ студије је био да се испита утицај примене емпаглифозина на репродуктивне и метаболичке карактеристике синдрома полицистичних јајника код пацова на моделу индукованом естрадиол валератом и масном храном.
1.3. Опис предмета истраживања (до 500 карактера):
Докторска дисертација је спроведена са циљем да се испита ефекат емпаглифозина на метаболичке и репродуктивне карактеристике синдрома полицистичних јајника код пацова на моделу изазваном применом естрадиол валерата и масне хране. Главни циљ истраживања био је усмерен на испитивање утицаја емпаглифозина на репродуктивне и метаболичке карактеристике овог синдрома, морфолошке карактеристике јајника, утеруса и масног ткива, као и на хормонски и липидни статус и на оксидациони стрес.

1.4. Анализа испуњености полазних хипотеза:

Хипотезе истраживања:

- Примена ЕМПА доводи до промена хормонског статуса на моделу PCOS код пацова.
- Примена ЕМПА доводи до промена гликорегулације на моделу PCOS код пацова.
- Примена ЕМПА доводи до промена вредности крвног притиска на моделу PCOS код пацова.
- Примена ЕМПА доводи до промена липидног статуса на моделу PCOS код пацова.
- Примена ЕМПА доводи до промена системског оксидационог статуса и оксидационог статуса на нивоу јајника на моделу PCOS код пацова.
- Примена ЕМПА доводи до промена морфолошких карактеристика јајника, утеруса и масног ткива на моделу PCOS код пацова.
- Ефекти примене ЕМПА су бољи од ефектата које остварује метформин на карактеристике PCOS код пацова

Све хипотезе су јасно и прецизно конципиране и проистичу из циљева студије. Дисертација је у потпуности потврдила све постављене хипотезе.

1.5. Анализа примењених метода истраживања:

Методолошки приступ истраживањима у оквиру ове докторске дисертације је одговарајући и у потпуности усаглашен са постављеним циљевима и хипотезама. У студију је укључено 42 пацова. Након потврде да је PCOS индукован, PCOS животиње суподељене на 5 група: PCOS + физиолошки раствор, PCOS + емпглифозин у дози од 5 mg/kg, PCOS + емпглифозин у дози од 15 mg/kg, PCOS + емпглифозин у дози од 45 mg/kg, PCOS + метформин у дози од 500 mg/kg. PCOS група је једнократно примила естрадиол-валерат (4 mg у 0.4 ml маслиновог уља), док је контролна група примила исту запремину маслиновог уља. Након двадесетосам дана од индукције PCOS, животиње су анестезиране (50 mg/kg кетаминa и 100 mg/kg ксилазина) и жртвоване декапитацијом на гиљотини, а крв и ткиво јајника, утеруса, као и супкутано масно ткиво и периоваријално масно ткиво су прикупљени за даљу анализу. Еструсни циклус је праћен током последњих 12 дана индукције PCOS модела, као и последњих 12 дана третмана емпглифозином и метформином. Након завршеног експерименталног протокола, животињама је извршена ехосонографска анализа јајника на апарату Hewlett-Packard Sonos 5500 (Andover, MA, USA). Гликемија је мерена коришћењем апарата Accu-Chek Performa (Roche Diagnostics, Indianapolis, IN, USA), употребом адекватних трачица, по пунктирању репне вене. Вредност крвног притиска је мерена методом репне плетизмографије, на крају експерименталног протокола. По извршној декапитацији, након одговарајуће анестезије, крв је прикупљена у епрувете ради добијања плазме и серума, центрифугирање је извршено на 300 обртаја, а узорковани плазма/серум и лизати еритроцита складиштени на -20 °C до тренутка анализирања. Коришћењем апарата Dimension Xpand (Siemens, IL, USA) из узорака серума су детерминисани параметри липидног статуса (укупни холестерол и триглицериди, као и LDL и HDL). Концентрација инсулина, као и нивои T, E, P, FSH и LH су детерминисани из серума. Нивои T, E, P су одређени електрохемилуминисцентним имунотестом на Elecsys 2010 апарату. За анализу су коришћени следећи реагенси: Elecsys Testosterone II, Estradiol III, Progesterone II Roche Diagnostics. Из плазме и лизата еритроцита одређиване су вредности параметара антиоксидационог система заштите, као и про-оксиданаса: индекс липидне пероксидације изражен као TBARS, азот моноксид у облику нитрита (NO_2^-), супероксид анјон радикал (O_2^-), водоник пероксид (H_2O_2), активност каталазе (CAT), активност супероксид дисмутазе (SOD) и концентрација редукованог глутатиона (GSH). Ради мерења активности CAT коришћено је 50 μL CAT пуфера, 100 μl лизата еритроцита и 1 mL 10 mM водоник пероксида. Активност SOD је одређена у реакцији са адуренином. Оксидација редукованог облика глутатиона преко 5,5-

дитиобис-6,2-нитробензојеве киселине је коришћен принцип реакције за мерење концентрације GSH. Десни јајник је изолован, хомогенизован у хладном PBS-у ради одреживања оксидационог стреса. Експлорацијом трбуха и карлице изолован је леви јајник, периоваријално масно ткиво и утерус, који су након били осусени, обојени и анализирани на микроскопу.

1.6. Анализа испуњености циља истраживања:

Циљеви ове докторске дисертације били су следећи:

- Испитати да ли примена ЕМПА доводи до промена хормонског статуса на моделу PCOS код пацова.
- Испитати да ли примена ЕМПА доводи до промена гликорегулације на моделу PCOS код пацова.
- Испитати да ли примена ЕМПА доводи до промена вредности крвног притиска на моделу PCOS код пацова.
- Испитати да ли примена ЕМПА доводи до промена липидног статуса на моделу PCOS код пацова.
- Испитати да ли примена ЕМПА доводи до промена системског оксидационог статуса и оксидационог статуса на нивоу јајника на моделу PCOS код пацова.
- Испитати да ли примена ЕМПА доводи до промена морфолошких карактеристика јајника, утеруса и масног ткива на моделу PCOS код пацова.
- Упоредити ефекте примене ЕМПА са ефектима метформина на карактеристике PCOS код пацова

Након завршене докторске дисертације сви постављени циљеви докторске дисертације су у потпуности испуњени.

1.7. Анализа добијених резултата истраживања и списак објављених научних радова кандидата из докторске дисертације (аутори, наслов рада, волумен, година објављивања, странице од-до, DOI број¹, категорија):

- Резултати су показали да примена ЕМПА повољно утиче на метаболичке и репродуктивне дисбалансе у моделу PCOS код пацова који је изазван применом естрадиол-валерата и режима исхране богате мастима. Средња и највећа примењена доза ЕМПА током 28 дана третмана (15 mg/kg и 45 mg/kg) испољавају најбољи ефекат у већини анализираних карактеристика PCOS у поређењу са најнижом дозом ЕМПА (5 mg/kg). Ови резултати могу навести на даља клиничка истраживања код пацијенткиња са PCOS, у различитим терапијским режимима.
- Једна доза естрадиол-валерата синергистички са применом исхране богате мастима током 60 дана доводи до развоја PCOS модела код постпуберталних пацова који испољава репродуктивне и метаболичке абнормалности сличне гојазном фенотипу PSOS код жена.
- Модел за индукцију PCOS примењен у овој студији довео је до повећања телесне масе, масе јајника, поремећаја еструсног циклуса, повећања нивоа тестостерона, снижења нивоа прогестерона, повећања волумена јајника, појаве полицистичне морфологије јајника са повећањем броја цистичних фоликула и смањењем броја жутих тела и повећања прооксидативних молекула.
- ЕМПА у средњој и највишој примењеној дози испољава исти ефекат као и метфорин на смањење финалне телесне масе у PCOS моделу код пацова.
- Све примењене дозе ЕМПА довеле су до ублажавања нерегуларности еструса, али у

¹Уколико публикација нема DOI број уписати ISSN и ISBN

мањој мери него метформин.

- Примена ЕМРА је супериорнија у односу на метформин у снижавању артеријског крвног притиска.
- ЕМРА у свим примењеним дозама доводи до смањена волумена јајника као и метформин.
- ЕМРА у свим примењеним дозама, као и метформин регулише гликемијски статус и инсулинемију.
- ЕМРА у средњој и највишој примењеној дози испољава ефекте сличне метформину у побољшању липидног статуса.
- ЕМРА у највећој дози је испољио исте ефекте као и метформин у регулацији нивоа тестостерона, естрадиола и прогестерона.
- ЕМРА је испољио исте ефекте као и метформин у регулацији FSH у серуму док у регулацији LH у серуму метформин испољио бољи ефекат.
- Третман највећом примењеном дозом ЕМРА имао је исти ефекат као и метформин у регулацији прооксидационих и антиоксидационих биомаркера молекула у крви.
- ЕМРА у највећој примењеној дози је повећао нивое GSH и смањео TBARS у ткиву јајника, док је активност SOD повећана свим примењеним дозама ЕМРА.
- Третман ЕМРА имао је исти ефекат у снижењу масе јајника као и метформин., док је највећој примењена доза ЕМРА имала исти ефекат у снижењу масе утеруса као и метформин.
- На висину луминалног епитела и дебљину ендометријума исти ефекат су испољили средња и највећа примењена доза ЕМРА и метформин.
- Средња и највећа примењена доза ЕМРА је сличнее ефекте на дијаметар и површину висцераног и субкутаног масног ткива као и метформин.
- Средња и највећа примењена доза ЕМРА је испољила исти ефекат као метформин у регулацији броја фоликула и жутих тела као и метформин

Резултати ове докторске дисертације објављени су у часопису индексираном на SCI листи:

- **Rakic D,** Joksimovic Jovic J, Jakovljevic V, Zivkovic V, Nikolic M, Sretenovic J, Nikolic M, Jovic N, Bicanin Ilic M, Arsenijevic P, Dimitrijevic A, Vulovic T, Ristic N, Bulatovic K, Bolevich S, Stijak L, Pantovic S. High Fat Diet Exaggerate Metabolic and Reproductive PCOS Features by Promoting Oxidative Stress: An Improved EV Model in Rats. *Medicina* (Kaunas). 2023 Jun 7;59(6):1104. doi: 10.3390/medicina59061104. (M21)

1.8. Оцена да је урађена докторска дисертација резултат оригиналног научног рада кандидата у одговарајућој научној области и анализа извештаја о провери докторске дисертације на плагијаризам (до 1000 карактера):

Претрагом доступне литературе помоћу биомедицинских база података „Medline“ и „KoBSON“, коришћењем одговарајућих кључних речи: „*Polycystic Ovary Syndrome*“, „*metformin*“, „*empagliflozin*“, „*rats*“, „*sodium-glucose cotransporter type 2 inhibitors*“, „*metabolic syndrome*“, и „*reproduction*“ нису пронађене студије сличног дизајна и методолошког приступа на анималним моделима. Сходно наведеном, Комисија констатује да докторска дисертација кандидата Дејане Ракић под називом „Испитивање утицаја примене емпаглифлозина на репродуктивне и метаболичке карактеристике синдрома полицистичних јајника код пацова“ представља резултат оригиналног научног рада.

Извештај о плагијаризму показао је минималан степен преклапања и то искључиво на местима која су била последица навођења имена институција, афилијација чланова комисије, методологије која је слична методологији коришћеној у сличним истраживањима, општих стручних имена, фраза и података. У свим осталим деловима научно-истраживачког рада није присутна никаква врста плагијаризма, што је и потврдио софтвер за проверу докторске дисертације на плагијаризам. Сходно наведеном, спроведено истраживање представља

оригиналан докторски пројекат и резултат је рада докторанда Дејане Ракић.

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

Узимајући у обзир преваленцу синдрома полицистичних јајника у општој популацији и симптоматски терапијски приступ овој комплексној ендокринопатији све већа пажња се усмерава ка откривању етиопатогенетских фактора, постављању јасних дијагностичких критеријума и проналаску куративне терапије. Овим истраживањем, први пут је показан ефекат емпаглифлозина и на метаболичке и на репродуктивне карактеристике на моделу полицистичних јајника код пацова. Иако емпаглифлозин није одобрен као терапијски приступ лечења ове ендокринопатије, у овом истраживању показан је његов позитиван ефекат на смањење оксидационог стреса, гликорегулацију, регулацију липидног статуса, регулацију нивоа полних хормона, смањење телесне масе, побољшање оваријалне и утерусне морфологије, снижење вредности крвног притиска и срчане фреквенције без нотираних сигнификантних нежељених ефеката. Иако је метформин и даље златни стандард у терапији PCOS, ЕМРА се показао подједнако делотворним у регулацији и репродуктивних и метаболичких карактеристика PCOS код пацова. У складу са свим изнетим чињеницама, овом студијом је показано да ЕМРА остварује мултифакторијални позитиван учинак у терапији PCOS модела пацова, остварујући бројне повољне ефекте на метаболички дисбаланс, оксидациони стрес и поремећену репродуктивну функцију ове комплексне ендокринопатије. Обзиром да је PCOS једна од најчешћих ендокринопатија жена репродуктивног периода и да је веома чест узрок инфертилитета, као и да је често повезан са гојазношћу, метаболичким синдромом, дијабетес мелитусом тип 2, истраживања овог типа су у жижи интересовања. Ово истраживање може представљати основу за будућа клиничка истраживања и евентуалну имплементацију терапијског приступа лечења PCOS у хуманој популацији, а самим тим и благовремену превенцију настанка бројних раних и касних компликација ове мултифакторијалне болести.

1.10. Оцена испуњености услова за одбрану докторске дисертације у складу са студијским програмом, општим актом факултета и општим актом Универзитета (до 1000 карактера):

Завршена докторска дисертација кандидата Дејане Ракић под називом „ Испитивање утицаја примене емпаглифлозина на репродуктивне и метаболичке карактеристике синдрома полицистичних јајника код пацова”, по обиму и квалитету израде у потпуности одговара пријављеној теми дисертације. Комисија сматра да су испуњени сви услови за одбрану ове докторске дисертације у складу са студијским програмом, општим актима Факултета медицинских наука и општим актима Универзитета у Крагујевцу.

2. ЗАКЉУЧАК

На основу анализе докторске дисертације и приложене документације Комисија за оцену и одбрану докторске дисертације под насловом „Испитивање утицаја примене емпаглифлозина на репродуктивне и метаболичке карактеристике синдрома полицистичних јајника код пацова”, кандидата **Дејане Ракић**, предлаже надлежним стручним органима да се докторска дисертација прихвати и да се одобри њена одбрана.

Чланови комисије:

Александра Димитријевић, редовни професор

Факултет медицинских наука

Универзитет у Крагујевцу

Председник комисије

Петар Арсенијевић, ванредни професор

Факултет медицинских наука

Универзитет у Крагујевцу

Члан комисије

Јована Јаковљевић Узелац, доцент

Медицински факултет

Универзитет у Београду

Члан комисије