

УНИВЕРЗИТЕТ У КРАГУЈЕВЦУ
ФАКУЛТЕТ МЕДИЦИНСКИХ НАУКА
НАСТАВНО-НАУЧНОМ ВЕЋУ

УНИВЕРЗИТЕТ У КРАГУЈЕВЦУ
ФАКУЛТЕТ МЕДИЦИНСКИХ НАУКА
У КРАГУЈЕВЦУ

ПРИМЉЕНО:	17. 07. 2021
Орг. јед.	1500
№	

1. Одлука Већа за медицинске науке Универзитета у Крагујевцу

Одлуком Већа за медицинске науке Универзитета у Крагујевцу, број IV-03-888/24 од 10.11.2021. године, именовани су чланови комисије за оцену научне заснованости теме докторске дисертације кандидата **Горана Маријановића** под називом:

„Утицај различитих анестетичких агенаса на кардиодинамику и оксидациони стрес дијабетичних пацова“

На основу одлуке Већа за медицинске науке, формирана је комисија у саставу:

1. **Доц. др Ненад Зорнић**, доцент Факултета медицинских наука Универзитета у Крагујевцу за ужу научну област *Хирургија*, председник;
2. **Доц. др Милош Николић**, доцент Факултета медицинских наука Универзитета у Крагујевцу за ужу научну област *Фармацеутска хемија*, члан;
3. **Проф. др Ото Барак**, редовни професор Медицинског факултета Универзитета у Новом Саду за ужу научну област *Физиологија*, члан.

На основу увида у приложену документацију, Комисија подноси Наставно-научном већу Факултета медицинских наука Универзитета у Крагујевцу следећи

ИЗВЕШТАЈ

Кандидат **Горан Маријановић** испуњава све услове предвиђене Законом о високом образовању и Статутом Факултета медицинских наука Универзитета у Крагујевцу за израду докторске дисертације.

2.1. Кратка биографија кандидата

Горан Маријановић је рођен 02.05.1962. у Андријевици. Основну школу је завршио у Андријевици, а Гимназију у Беранама. Медицински факултет је уписао у Београду 1981. године, а дипломирао је 1990. године на Медицинском факултету у Приштини. Специјализацију из Анестезиологије је завршио 2000. године на Медицинском факултету у Београду.

Прво радно место му је било у Медицинском центру у Беранама, затим у Здравственој станици у Андријевици. Од 1996. године стално је запослен у Клиничком центру Црне Горе, на Клиници за Анестезију, а од 2020. године је директор клинике за анестезију. Докторске студије је уписао 2007. године на Медицинском факултету у Крагујевцу, одсек Клиничка и експериментална хирургија. Титулу примаријуса је добио 2017. Члан је тима Клиничког центра Црне Горе за специјални транспорт витално угрожених пацијената. Болнички координатор за транспалтације био је од 2014. А од 2020. је национални координатор за транспалтације. Учесник је више конгреса, семинара, курсева у земљи и иностранству. Аутор је и коаутор више радова у домаћим и иностраним часописима.

2.2. Наслов, предмет и хипотезе докторске тезе

Наслов: „Утицај различитих анестетичких агенаса на кардиодинамику и оксидациони стрес дијабетичних пацова“

Предмет: Испитивање утицаја различитих анестетичких агенаса на функцију срца и промене у редокс равнотежи пацова са експерименталним дијабетесом.

Хипотезе:

1. Примена различитих лекова из групе анестетика може да утиче кардиодинамске параметре и коронарну циркулацију срца дијабетичних пацова.
2. Примењени анестетици могу да остваре ефекте на продукцију маркера системског и срчаног оксидационог стреса код дијабетичних пацова.
3. Примена различитих лекова из групе анестетика може да утиче на патохистолошке карактеристике срца дијабетичних пацова.
4. Очекује се постојање корелације између патохистолошких промена и параметара срчаног рада.

2.3. Испуњеност услова за пријаву теме докторске дисертације

Кандидат, Горан Маријановић, је објавио 1 рад у целости у часопису категорије M51, у коме је први аутор, чиме је стакао услов за пријаву теме докторске дисертације.

1. **Marijanovic G, Radunovic L. The Impact of Different Antiemetics on the Nausea in Early Postoperative Period After Laparoscopic Holecystectomy. Ser J Exp Clin Res 2021;22(2):117-23. M51**

2.4. Преглед стања у подручју истраживања

Данас је широм света приближно 380 милиона пацијената са дијагностикованим дијабетесом тип 2, при чему све више расте број особа са кардиоваскуларним компликацијама и укупним бројем од 17,3 милиона смртних исхода годишње. Сматра се да ће број оболелих до 2035. године порастати на 600 милиона. Пацијенти са дијабетесом су под повећаним ризиком за настанак микро и макро компликација, од којих највећи проценат заузимају кардиоваскуларне компликације. Кардиоваскуларне болести су водећи узрок морталитета при чему дијабетес остаје водећи узрок како кардиоваскуларног тако и укупног морбидитета и морталитета. Управо је због тога лечење али и превенција ове болести изазов али и приоритет у циљу смањења коморбидитета и смртних исхода.

Повратак свести и будности након анестезије могу бити праћени поремећајем срчаног рада, високим крвним притиском, порастом абдоминалног и интракранијалног притиска, исхемијом миокарда. Додатно, код пацијената који су под анестезијом, током хирушке интервенције може доћи до исхемије миокарда која представља главни нежељени ефекат и значајно повећава морбидитет и морталитет након операције. Ранија истраживања су показала да срчане компликације настале у току хирушке интервенције могу нашкодити пацијенту како у току саме интервенције, тако и након неколико месеци и година.

2.5. Значај и циљ истраживања

Имајући у виду учесталост дијабетеса у општој популацији као и компликације које настају као последица дијабетеса, постоји потреба за експерименталним испитивањем утицаја анестетика на функцију срца и оксидациони статус. Значај истраживања се огледа у разумевању механизма на који анестетици могу потенцијално штетно да делују на кардиоваскуларни систем посредством промена у регулацији продукције и елиминације реактивних врста.

Главни циљ испитивања

Испитати утицај различитих анестетичких агенаса (фентанила, ремифентанила, мидазолама, дексмететомидина, тиопенгала) на кардиодинамске параметре, коронарну

циркулацију, динамику редокс равнотеже и хистолошке параметре срца дијабетичних пацова.

Специфични циљеви испитивања:

1. Испитати утицај различитих анестетичких агенаса на кардиодинамске параметре и коронарну циркулацију изолованог срца дијабетичних пацова.
2. Испитати утицај различитих анестетичких агенаса на биомаркере оксидационог стреса из коронарног венског ефлуента изолованог срца дијабетичних пацова.
3. Испитати утицај различитих анестетичких агенаса на биомаркере системског оксидационог оштећења и антиоксидационог система заштите из крви дијабетичних пацова.
4. Стандардним хистолошким методама утврдити и упоредити промене настале након примене различитих анестетичких агенаса на срчани мишић дијабетичних пацова.

2.6. Веза истраживања са досадашњим истраживањима

Датас је у употреби велика палета лекова тачније анестетика, из многобројних фармаколошких група, који имају различите ефекте на кардиоваскуларни систем и на сам миокард. Сходно томе, ранија истраживања указују на смањење повреде миокарда, протективни ефекат на кардиомиоците пацова али и повећање оксидационог стреса у миокарду након примене већих доза ремифентанила. Са друге стране, показано је анестетици из групе барбитурата са ултракратким ефектом имају позитиван утицај на миокард. Заправо на анималном моделу индукованих аритмија тиопентал се показао ефикасним док је примена метохекситала на анималном моделу фокалне церебралне исхемије показала позитивне ефекте. Високо селективни β_2 -агониста адренергичких рецептора, дексметомидин, је показао бољу толеранцију у односу на фентанил и пропофол. Дексметомидин може да доведе до смањења протока крви кроз миокард и потражње миокарда за кисеоником код здравих волонтера док приликом примене код животиња пре исхемије миокарда доводи до смањеног проток крви и исхемијске повреде као и побољшаног коронарног протока.

Међутим, претходне студије су показале да примена дексметомидина током спиналне анестезије може изазвати пролазку хипертензију, хипотензију или брадикардију. Стога се као алтернативни анестетик код пацијената са повећаним ризиком од настанка брадикардије користи мидазолам.

Због свих потенцијалних компликација, правилан избор анестетика може помоћи у смањењу истих узрокованих применом анестезије. Поред тога, боље разумвање улоге анестетика у превенцији оштећења миокарда може помоћи у стварању периперативних стратегија које за циљ имају побољшање исхода саме хируршке интервенције.

Услед високе преваленце дијабетеса, малог броја различитих литературних података о анестетикима, затим растуће старе популације као и великог броја медицинских техника које могу бити спроведене код пацијената дијабетесом, сматрамо да је од интереса испитати ефекте

анестетика са различитим механизмима деловања па кардиодинамске параметре, крвни притисак као и на морфолошке промене срца у условима дијабетеса.

2.7. Методе истраживања

2.7.1. Врста студије

Тип студије према коме ће бити спроведено истраживање је експериментална студија на животињама *ex vivo*.

2.7.2. Популација која се истражује

Планирано је да истраживање обухвати 80 пацова *Wistar albino* соја, мушког пола, старости 14 недеља, телесне масе 350-400 грама. Све животиње ће бити чуване у строго контролисаним условима виваријума (температура $22\pm 1^\circ\text{C}$, циклус светлост:тама 12:12 часова), док ће вода и храна бити доступна у довољној количини да би могле да их узимају према потреби (*ad libitum*).

Експериментална студија би била спроведена у Лабораторији за кардиоваскуларна истраживања, Факултета медицинских наука Универзитета у Крагујевцу. При експерименталном раду биће поштоване одредбе прописаних аката (*EU Directive for the Protection of the Vertebrate Animals used for Experimental and other Scientific Purposes 86/609/EEC*) и принципи етичности. Студија је одобрена од стране Етичке комисије за заштиту добробити огулних животиња Факултета медицинских наука (бр. 01/1285).

2.7.3. Узорковање

Животиње би се методом случајног узорка груписале у десет (10) група (8 животиња по свакој групи):

1. Контролна група пацова (*Wistar Albino*, дијабетични пацови);
2. Болус инјекција фентанила у дози од 0,005 mg/kg интраперитонеално (i.p.) (13);
3. Болус инјекција ремифентанила у дози од 0,04 mg/kg (i.p.) (14);
4. Болус инјекција мидазолама у дози од 2,5 mg/kg (i.p.) (15);
5. Болус инјекција дексметомидина у дози од 0,05 mg/kg (i.p.) (13);
6. Болус инјекција тиопентала у дози од 85 mg/kg (i.p.) (7);
7. Комбинација болус инјекције фентанила и болус инјекције тиопентала;
8. Комбинација болус инјекције ремифентанила и болус инјекције тиопентала;
9. Комбинација болус инјекције мидазолама и болус инјекције тиопентала;
10. Комбинација болус инјекције дексметомидина и болус инјекције тиопентала;

Индукција дијабетеса:

Пре индукције дијабетеса потребне су две недеље адаптације. Како бисмо изазвали дијабетес типа 1, након неузимања хране током ноћи, пацовима ће бити примењена једна интраперитонеална доза стрептозоцина (60 mg/kg) (*Sigma, St. Louis, MO, USA*), растворена у свежем раствору 0,01M цитратног пуфера или чувана у аликвотима од 1ml на температури

од 20°C (0,1 mol/L лимунске киселине, 0,1 mol/L натријум цитрата), pH 4,5. Дијабетес ће бити потврђен након 72 сата, када би концентрација глукозе у крви била > 11,1mmol/L. Животиње код којих је изазван дијабетес биле би праћене наредне 4 недеље, након чега би била спроведена примена анестетичких агенаса и жртвовања.

2.7.4. Варијабле

У истраживању ће бити праћени кардиодинамски параметри, биомаркери оксидационог стреса, и патохистолошки показатељи.

Након апликације анестетика, животиње би се жртвовале, срце изоловало и потом перфундовало према модификованој техници изолованог, ретроградно перфундованог срца по *Langendorff*-у. Након успостављања стабилног срчаног рада, уклањањем леве преткоморе и прокидањем митралне валвуле омогућило би се убацавање сензора (*transducer BS4 73-0184, Experimetria Ltd, Budapest, Hungary*) у леву комору ради директног и континуираног праћења параметара функције леве коморе:

1. dp/dt max - максимална стопа промене притиска у левој комори,
2. dp/dt min - минимална стопа промене притиска у левој комори,
3. SLVP - систолни притисак леве коморе,
4. DLVP - дијастолни притисак леве коморе,
5. HR - срчана фреквенција

Вредност коронарног протока (CF) би се одређивала флоуметријски.

Функција миокарда и коронарна ауторегулација ће се испитивати при промени перфузионог притиска, почев од притиска од 60 cmH₂O, затим 80 cmH₂O, 100 cmH₂O, 120 cmH₂O и на крају 40 cmH₂O, док ће се за сваку вредност перфузионог притиска регистровати параметри функције леве коморе и одређивати коронарни проток.

У прикупљеним узорцима коронарног венског ефлуента, за сваку вредност перфузионог притиска, спектрофотометријским методама биће одређивани следећи биомаркери оксидационог стреса: индекс липидне пероксидације - мерен као TBARS, азот моноксид у форми нитрита (NO₂⁻), супероксид анјон радикал (O₂⁻), и водоник пероксид (H₂O₂).

Поред тога, приликом жртвовања животиња прикупили би се узорци крви за процену системског редокс статуса, путем мерења нивоа прооксидационих параметара (TBARS-а, NO₂⁻, O₂⁻, H₂O₂) и компоненти антиоксидационог система заштите: каталаза (CAT), супероксид дисмутаза (SOD) и редуковани глутатион (GSII).

Такође, након спроведених експеримената срце би се користило за хистолошку анализу. Препарати ткива срце биће фиксирани у 4% пуферизованом формалину након чега се уграђују у парафинске калупе. Потом се секу на пресеке дебљине 4 микрона и боје хематоксилином/еозином и методом по *Masson*-у.

2.7.5. Снага студије и величина узорка

Прорачун укупног узорка је заснован на резултатима претходно објављене студије. За прорачун је коришћен Т-тест за везани узорак, двоструко, уз претпоставку алфа грешке од 0,05 и снаге студије 0,8 (бета грешка 0,2) и уз коришћење одговарајућег рачунарског програма *G power*. Узимањем у обзир резултате наведене студије, укупан број експерименталних животиња је прорачунат на 60 (10 група, по 6 животиња у свакој групи). Ипак, због могућности искључења експерименталних животиња из завршне анализе, укупни студијски узорак је утврђен на 80 (по 8 у свакој групи).

2.7.6. Статистичка обрада података

За обраду података користиће се статистички пакет SPSS 22.0. Пре статистичке обраде података, испитаће се правилност расподеле добијених вредности. Уколико вредности буду имале правилну расподелу користиће се параметарски Student-ов t тест, док ће се неправилна расподела поредити коришћењем непараметарског Mann-Whitney теста. Ако се утврди да постоји статистички значајна разлика између група користиће се *Bonferroni*-јев тест како би се утврдило између којих група се појавила статистички значајна разлика. Статистички значајна разлика у добијеним вредностима између група је одређена на $p < 0.05$.

2.8. Очекивани резултати докторске дисертације

С обзиром да дијабетес представља све учесталији ентитет у популацији, посебно код старијих пацијената, ово истраживање би допунило сазнања о ефектима анестетичких агенаса (који припадају различитим фармаколошким групама, са различитим фармакокинетичким особинама), на функцију миокарда у условима дијабетеса. Поред тога, путем испитивања маркера оксидационог стреса допринело би се бољем разумевању механизма путем кога испитивани анестетици остварују своје ефекте на изоловано срце.

2.9. Оквирни садржај докторске дисертације

Боље разумевање кардиогених ефеката анестетика може помоћи у стварању периперативних стратегија које за циљ имају побољшање хируршке интервенције и смањење компликација насталих применом анестезије, нарочито код дијабетичних пацијената.

3. Предлог ментора

За менторе ове докторске дисертације се предлажу проф. др Татјана Вуловић, ванредни професор Факултета медицинских наука Универзитета у Крагујевцу за ужу научну област *Хирургија*, и проф. др Владимир Живковић, ванредни професор Факултета медицинских наука Универзитета у Крагујевцу за ужу научну област *Физиологија*.

Проф. др Татјана Вуловић и проф. др Владимир Живковић поседују стручне и научне компетенције које су комплементарне са предметом истраживања и испуњавају услове за ментора докторских дисертација у складу са стандардом 9. за акредитацију студијских програма докторских академских студија на високошколским установама.

3.1 Компетентност ментора

Радови проф. др Татјане Вуловић који су у вези са темом докторске дисертације:

1. **Vulović T, Ristanovic A, Vukovic R, Veljović M.** Acute intermittent porphyria - a case report. *Vojnosanit Pregl.* 2020. doi: 10.2298/VSP190613094V.
2. **Arsenijevic P, Zivanovic A, Protrka Z, Dimitrijevic A, Sorak M, Vulovic T, Vukcevic Globarevic G, Vilendecic Z, Andric B, Arsenijevic S.** Cervical breaking point; a phenomenon unveiled during continuous controllable ballon dilatation. *Clin Exp Obstet Gyn.* 2018;45(6):833-836.
3. **Karišik M, Gligorović Barhanović N, Vulović T, Simić D.** Postoperative pain and stress response: does child's gender have an influence? *Acta Clin Croat.* 2019;58:274-280.
4. **Veljović M, Mihajlović I, Subota V, Antunović M, Jevdjić J, Udovčić I, Popadić A, Vulović T.** Effect of pretreatment with omega-3 polyunsaturated fatty acids (PUfas) on hematological parameters and platelets aggregation in patients during elective coronary artery bypass grafting. *Vojnosanit Pregl.* 2013;70(4):396-402.
5. **Vukcevic G, Volarevic V, Raicevic S, Tanaskovic I, Milicic B, Vulovic T, Arsenijevic S.** A novel semi-quantitative method for measuring tissue bleeding. *Histol Histopathol* 2014; 29(3):353-360.
6. **Selimović E, Vulović T, Petrović B, Bugarčić Z, Bogojeski J.** Complex formation reactions of two sterically hindered platinum(II) complexes with some Nbonding ligands. *Transition Met Chem.* 2013;38:635-640.

Радови проф. др Владимира Живковића који су у вези са темом докторске дисертације:

1. **Jakovljevic V, Milic P, Bradic J, Jeremic J, Zivkovic V, Srejovic I, Nikolic Turnic T, Milosavljevic I, Jeremic N, Bolevich S, Labudovic Borovic M, Mitrovic M, Vucic V.** Standardized Aronia melanocarpa Extract as Novel Supplement against Metabolic Syndrome: A Rat Model. *Int J Mol Sci.* 2019; 20(1):6.
2. **Bradic J, Jeremic N, Petkovic A, Jeremic J, Zivkovic V, Srejovic I, Sretenovic J, Matic S, Jakovljevic V, Tomovic M.** Cardioprotective effects of Galium verum L. extract against myocardial ischemia-reperfusion injury. *Arch Physiol Biochem.* 2019:1-8.
3. **Jakovljevic B, Nikolic Turnic T, Jeremic N, Savic M, Jeremic J, Srejovic I, Belic B, Ponorac N, Jakovljevic V, Zivkovic V.** The impact of high-intensity interval training and moderate-intensity continuous training regimes on cardiodynamic parameters in isolated

heart of normotensive and hypertensive rats. *Can J Physiol Pharmacol.* 2019;97(7):631-637.

4. Bradic J, Zivkovic V, Srejovic I, Jakovljevic V, Petkovic A, Turnic TN, Jeremic J, Jeremic N, Mitrovic S, Sobot T, Ponorac N, Ravic M, Tomovic M. Protective Effects of Galium verum L. Extract against Cardiac Ischemia/Reperfusion Injury in Spontaneously Hypertensive Rats. *Oxid Med Cell Longev.* 2019;2019:4235405.
5. Smigic J, Sabo T, Vranic A, Zivkovic V, Srejovic I, Turnic TN, Milosavljevic I, Poljarevic J, Krivokapic M, Bojevich S, Jakovljevic VL. Chronic effects of platinum(IV) complex and its diamine ligand on rat heart function: comparison with cisplatin. *Mol Cell Biochem.* 2019;458(1-2):89-98.
6. Djuric M, Nikolic Turnic T, Kostic S, Radonjic K, Jeremic J, Petkovic A, Bradic J, Milosavljevic I, Srejovic I, Zivkovic V, Djuric D, Jakovljevic V, Stevanovic P Inhibition of gasotransmitters production and calcium influx affect cardiodynamic variables and cardiac oxidative stress in propofol-anesthetized male Wistar rats 1. *Can J Physiol Pharmacol.* 2019;97(9):850-856

4. Научна област дисертације

Медицина. Изборно подручје: Клиничка и експериментална хирургија

5. Научна област чланова комисије

1. Доц. др Ненад Зорнић, доцент Факултета медицинских наука Универзитета у Крагујевцу за ужу научну област *Хирургија*, председник;
2. Доц. др Милош Николић, доцент Факултета медицинских наука Универзитета у Крагујевцу за ужу научну област *Фармацеутска хемија*, члан;
3. Проф. др Ото Барак, редовни професор Медицинског факултета Универзитета у Новом Саду за ужу научну област *Физиологија*, члан.

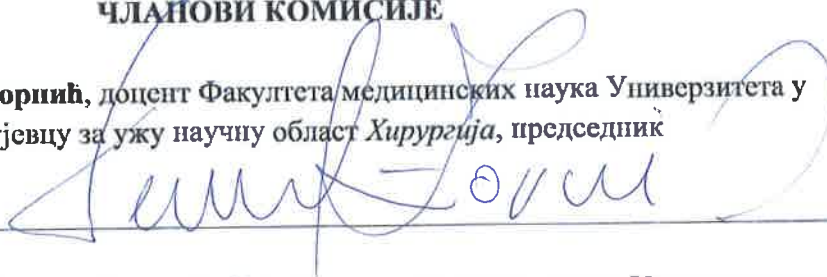
ЗАКЉУЧАК И ПРЕДЛОГ КОМИСИЈЕ

На основу досадашњег научно-истраживачког рада кандидат, Горан Маријановић, испуњава све услове за одобрење теме и израду докторске дисертације. Предложена тема је научно оправдана и оригинална, дизајн истраживања прецизно постављен и дефинисан, а научна методологија јасна и прецизна.

Комисија предлаже Научно-наставном већу Факултета медицинских наука Универзитета у Крагујевцу да прихвати тему докторске дисертације кандидата **Горана Маријановића**, под насловом: „Утицај различитих анестетичких агенаса на кардиодинамику и оксидациони стрес дијабетичних пацова“ и одобри њену израду.

ЧЛАНОВИ КОМИСИЈЕ

Доц. др **Ненад Зорнић**, доцент Факултета медицинских наука Универзитета у Крагујевцу за ужу научну област *Хирургија*, председник



Доц. др **Милош Николић**, доцент Факултета медицинских наука Универзитета у Крагујевцу за ужу научну област *Фармацеутска хемија*, члан



Проф. др **Ото Барак**, редовни професор Медицинског факултета Универзитета у Новом Саду за ужу научну област *Физиологија*, члан



У Крагујевцу, 30.12.2021. године