

НАУЧНОМ ВЕЋУ МЕДИЦИНСКОГ ФАКУЛТЕТА

УНИВЕРЗИТЕТА У БЕОГРАДУ

На седници Научног већа Медицинског факултета у Београду, одржаној дана 06.09.2021. године, број 9700/16-СК, именована је комисија за оцену завршене докторске дисертације под насловом:

**„ МОРФОЛОШКЕ ПРОМЕНЕ У ДОПАМИНЕРГИЧКИМ СТРУКТУРАМА
МОЗГА ПАЦОВА УСЛОВЉЕНЕ МАТЕРНАЛНОМ ДЕПРИВАЦИЈОМ“**

кандидата др Слободана Капора, запосленог на Медицинском факултету у Београду у звању асистента на катедри за ужу научну област Анатомија. Ментор ове докторске тезе је доц. др Милан Аксић, коментор је доц. др Марин Јукић.

Комисија за оцену завршене докторске дисертације именована је у саставу:

1. Проф. др Ласло Пушкаш, професор Медицинског факултета у Београду
2. Доц. др Дубравка Алексић, доцент Медицинског факултета у Београду
3. Проф. др Бисерка Вукомановић - Ђурђевић, професор Медицинског факултета Универзитета Одбране - ВМА у Београду

На основу анализе приложене докторске дисертације, комисија за оцену завршене докторске дисертације једногласно подноси Научном већу Медицинског факултета следећи

ИЗВЕШТАЈ

А) Приказ садржаја докторске дисертације

Докторска дисертација др Слободана Капора написана је на 135 страна и подељена је на следећа поглавља: увод, циљеви рада, материјал и методе, резултати, дискусија, закључци и литература. У дисертацији се налази укупно 19 слика, 26

графикона и 38 табела. Докторска дисертација садржи сажетак на српском и енглеском језику, биографију кандидата и податке о комисији.

У **уводу** је широко приказана анатомија допаминергичког и норадренергичког система са освртом на главне анатомске пројекције наведених система као и њихову улогу у централном нервном систему. Дат је опис и значај анималних модела у проучавању психијатријских обољења са посебним освртом на матерналну депривацију као једног од потенцијалних узрока у развоју схизофреније у каснијем периоду живота. Детаљно је описана допаминска теорија настанка схизофреније. Посебан осврт је дат на активност допамина и норадреналина као неуротрансмитера у централном нервном систему. Такође, приказани су и основни неуронски кругови и функције базалних ганглија са описом допаминергичких и норадренергичких једара. Детаљно су описани моторни кругови, директни, индиректни као и кортико-стријато-нигрални.

Циљеви рада су прецизно дефинисани. Састоје се у испитивању дуготрајног утицаја матерналне депривације на промене у телесној тежини и концентрацији кортикостерона у крви код адолесцентних и адултних пацова. Врло јасно су дефинисани циљеви испитивања морфолошких промена у допаминергичким и норадренергичким једрима у три стереотаксичке координате у односу на краниометријску тачку брегма у два периода живота, адолесценције и зреле доби. Као циљ рада наведено је и испитивање дуготрајног утицаја матерналне депривације на густину и број допаминергичких неурона у допаминергичким и норадренергичким једрима према наведеним координатама код адолесцентних и адултних животиња.

У поглављу **Материјал и методе** наведено је да су експерименти рађени на животињама које су добијене из узгајалишта Института за биолошка истраживања „Синиша Станковић“ у Београду. Описан је експериментални модел матерналне депривације пацова уз детаљан опис услова њиховог чувања. Експерименти су спровођени у складу са етичким принципима и смерницама за бригу о животињама одобреним од Управе за ветерину Министарства пољопривреде и заштите животне средине и Медицинског факултета Универзитета у Београду. Прецизно су наведени начин одвајања младунаца од мајке као и временски интервали подвргавања животиња

експерименту и њиховог жртвовања. Детаљно је описана методологија припреме узорака за тирозин-хидроксилаза имунохистохемијско бојење као и начин морфолошких испитивања на микрографијама, која подразумевају одређивање волумена допаминергичких једара, бројање допаминергичких неурона у волумену испитиваних једара, као и густину тирозин-хидроксилаза позитивних неурона у допаминергичким и норадренергичким једрима. Такође, техником примене ензимског имунолошког теста (*EIA*) мерена је концентрација кортикостерона у крви код адолесцентних и адултних животиња. Све испитиване промене су обухватиле два периода живота, доба адолесценције и зреле доби. Добијени резултати су статистички обрађени у програму SPSS 11.0.

У поглављу **Резултати** детаљно су описани и јасно представљени сви добијени резултати.

Дискусија је написана јасно и прегледно, уз приказ података других истраживања са упоредним прегледом добијених резултата истраживања.

Закључци сажето приказују најважније налазе који су проистекли из резултата рада. Коришћена **литература** садржи списак од 140 референци.

***** Провера оригиналности докторске дисертације**

Дана 30.7. 2012. године на основу Правилника о поступку провере оригиналности докторских дисертација које се бране на Универзитету у Београду проверена је оригиналност докторске дисертације др Слободана Капора. У налазу извештаја програма iThenticate утврђено је да подударност текста износи **9%**. Овај степен подударности последица је цитата, библиографских података о коришћеној литератури, тзв.општих места и података, као и претходно публикованих докторандових истраживања који су проистекли из његове дисертације што је у складу са чланом 9. Правилника. На основу свега изнетог, изјављујемо да извештај указује на оригиналност докторске дисертације.

Б) Кратак опис постигнутих резултата

Ово истраживање је показало да рани стрес изазван матерналном депривацијом проузрокује дуготрајне промене у допаминергичким структурама мозга пацова што може бити значајан етиолошки фактор за настанак шизофреније. Првенствено стрес проузрокован раним одвајањем младунаца од мајке доводи до повећања концентрације кортикостерона код адолесцентних и адултних пацова. Поред тога матернална депривација доводи и до смањења телесне тежине у јувенилном, адолесцентном и адултном периоду живота пацова. Такође, рани стрес као што је матернална депривација, доводи до повећања волумена *substantia-e nigra-e*, вентралног тегменталног подручја (VTA) и *locus-a coeruleus-a* код адолесцентних и адултних животиња. Стрес проузрокован раним одвајањем младунаца од мајке доводи и до дуготрајних квантитативних промена тирозин-хидроксилаза позитивних неурона у наведеним једрима, чији се број повећава у периоду адолесценције и остаје повећан и у периоду пуне зрелости. Поред тога у резултатима је детаљно приказан утицај стреса на густину тирозин-хидроксилаза позитивних неурона. Матернална депривација доводи до смањења густине допаминергичких неурона у *substantia nigra pars compacta* (SNpc) и вентралном тегменталном подручју (VTA) у стереотаксичкој координати А/Р 5.20 – 5.70 мм у односу на брегму, код адолесцентних пацова. Код адултних животиња, стрес проузрокован матерналном депривацијом, доводи до повећања густине допаминергичких неурона у свим испитиваним координатама *substantia-e nigra-e pars reticulata* (SNpr), док се исти резултат уочава и у стереотаксичкој координати А/Р 5.80 – 6.30 у *substantia nigra pars compacta* и вентралном тегменталном подручју (VTA). У периоду адолесценције и зреле доби, уочава се смањење густине допаминергичких неурона у *locus-u coeruleus-u*.

Наведени подаци могу бити од значаја у смислу сагледавања и разумевања етиопатогенетских механизма шизофреније, као и у развоју нових експерименталних модела и стратегија у лечењу ове болести.

Ц) Упоредна анализа докторске дисертације са резултатима из литературе

Ова студија била је фокусирана на ефекте стреса проузроковане матерналном депривацијом у раном животном добу на волумен допаминергичких једара као и број и густину допаминергичких неурона унутар тих једара. Кључни резултати овог истраживања су да адолесцентни и адултни мозак пацова подлеже променама у испитиваним параметрима које су проузроковане стресом у раном животном периоду, праћеним повишењем нивоа кортикостерона у крви. Такође, резултати ове студије корелирају са резултатима Хенкока и Гранта, који су показали да је након одвајања мајке од младунаца у различитим периодима развоја унос хране опао (Hancock i Grant, 2009). Конкретно, матернална депривација повећава волумен свих допаминергичких једара и укупан број допаминергичких неурона у њима у периоду адолесценције и одрасле доби. Постнатално одвајање младунаца од мајке проузроковало је неправилан развој допаминергичког система, за који се претпоставља да игра улогу у патологији психијатријских болести (Malnic i sar., 1971). Ограничавањем контакта између мајке и младунаца, што укључује ускраћивање хране у фази раздвајања, нарушава се реакција прилагођавања у току SHRP-a (eng. stress hyporesponsive period) и доводи до абнормалног функционисања осе хипоталамус-хипофиза-надбубрежна жлезда (НРА) и појачаног одговора на стрес (Champagne i sar., 2009). Претходне студије су показале да перинатални третман глукокортикоидима може трајно изменити базални ниво хормона и ниво стреса изазваних циркулишућим глукокортикоидима код експерименталних животиња, а документовано је да ендогени надбубрежни стероиди повећавају активност допамина у стриатуму (McArthur i sar., 2005). Губитак телесне тежине код пацова одговара повишењу експресије гласника RNK (mRNA) који преноси хормон који ослобађа кортикотропин-ослобађајући (CRH) хормон (Kawaguchi i sar., 2005) и порасту адренкортикотропног хормона (ACTH) (Vong i sar., 1993) и кортикостерона (Burden i sar., 1993). Метода одвајања мајке од младунаца коришћена у овом истраживању разликује се од оне која се користи у већини других студија забележених у литератури, али су добијени резултати у складу са исходом студије коју су спровели Чочик и сар. (Chocук, 2011). Они су доказали привремени пораст броја TH + неурона у

SNprg код адолесцентних пацова, као и пораст броја TH + неурона у VTA код одраслих пацова, без промена у волумену испитиваних структура. У зависности од стадијума развоја мозга, постоји неколико могућих објашњења за повећани број TH-позитивних неурона у SN и VTA. Због зависности нивоа перикаријалних TH протеина од брзине аксонског транспорта, могуће је да TH није присутан у ћелијском телу или је присутан у великим количинама (Nestler, 1992). Конститутивне и трајне промене у експресији TH + неурона у средњем мозгу су могуће јер се у SN и VTA експресије Nurr1 (nuclear receptor 1) и Pitk3 транскрипционих фактора јављају током пре- и постнаталног периода развоја мозга и одговорне су за преживљавање допаминергичких неурона (Ojeda i sar., 2003; Korotkova i sar., 2005; Katunar i sar., 2009, 2010). Такође, постоји могућност да је разлика узрокована експресијом тирозин хидроксилазе из ћелија које се разликују од типичних допаминергичких ћелија у SN и VTA (Ugumov, 2009). Резултати ове дисертације су показали пораст густине TH + неурона код адултних пацова у испитиваном стереотаксичком опсегу SNprg, SNpc и VTA у A/P координати 5.80–6.30 мм у односу на брегму. Ови резултати су у корелацији са истраживањем спроведеним на пацовима соја Wistar, које су извели Чочик и сар. (Chocyk, 2011) и показали да је матернална депривација у периоду адолесценције довела до повећања броја и густине TH + неурона у SNprg, али не и у VTA. Резултати добијени у овој студији слични су студији коју су спровели McArthur i sar. (2007), који (у фармаколошком смислу) могу имитирати ефекте стреса. Де Соуза и сар. (2018) показали су да је стрес у раном животном добу изазван током тамне фазе циклуса осветљености повећао експресију гена допаминергичких рецептора Drd1 и Drd2a. Овај ефекат је примећен само код мушких пацова. Резимирајући, експресија допаминских рецептора снажно је регулисана аверзивним раним животним искуствима. Заправо, ови ефекти могу имати полну специфичну развојну путању. Познато је да матернална депривација ремети деловање НРА осе и утиче на нивое циркулишућих глукокортикоида (ГК) (de Kloet i sar., 2005). Глукокортикоиди, делујући преко глукокортикоидних и минералокортикоидних рецептора широко експримираних у мозгу, утичу на транскрипцију специфичних гена или врше многе негеномске ефекте. ГК имају значајну улогу у регулацији развоја и сазревања мозга. Неравнотежа изазвана стресом у

раном животном добу на нивоима ГК може програмирати мождане функције, укључујући неуротрансмисију допамина, за каснији живот (de Kloet i sar., 2005).

Д) Објављени радови који чине део докторске дисертације

1. **Карор S**, Aksić M, Puškaš L, Jukić M, Poleksić J, Milosavljević F, Bjelica S, Filipović B. Long-Term Effects of Maternal Deprivation on the Volume of Dopaminergic Nuclei and Number of Dopaminergic Neurons in Substantia Nigra and Ventral Tegmental Area in Rats. *Front Neuroanat.* 2020 Oct 23;14:578900. doi: 10.3389/fnana.2020.578900. **M21a (IF=3.86)**

Е) Закључак (образложење научног доприноса)

Докторска дисертација „**Морфолошке промене у допаминергичким структурама мозга пацова условљене матерналном депривацијом**“ др Слободана Капора представља оригинални научни допринос у расветљавању утицаја раног стреса на дуготрајне промене у мозгу експерименталних животиња. Комисији је задовољство да истакне да је ово прва студија која је пружила доказе да рани животни стрес изазван матерналном депривацијом спроведен деветог постаналног дана (ПН9) код мужјака пацова доводи до трајних промена у морфолошким и биохемијским параметрима, укључујући телесну тежину пацова, волумен допаминергичких једара, број ТН + неурона у три различита стереотаксичка опсега кроз укупну ростро-каудалну димензију и густину ТН + неурона у истим опсезима. Докторска дисертација је урађена према свим принципима научног истраживања. Циљеви су били прецизно дефинисани, научни приступ је био оригиналан и пажљиво изабран, а методологија рада је била савремена. Резултати су прегледно и систематично приказани и дискутовани, а из њих су изведени одговарајући закључци.

На основу свега наведеног и имајући у виду досадашњи научни рад кандидата, комисија предлаже Научном већу Медицинског факултета Универзитета у Београду да прихвати докторску дисертацију др Слободана Капора и одобри њену јавну одбрану ради стицања академске титуле доктора медицинских наука.

У Београду, 16.09.2021.године

Чланови Комисије:

Проф. др Ласло Пушкеш

Доц. др Дубравка Алексић

Проф. др Бисерка Вукомановић - Ђурђевић

Ментор:

Доц. др Милан Аксић

Коментор:

Доц. др Марин Јукић