

NAUČNOM VEĆU MEDICINSKOG FAKULTETA  
UNIVERZITETA U BEOGRADU

Na sednici Naučnog veća Medicinskog fakulteta u Beogradu, održanoj dana 07.05.2015. godine, imenovana je Komisija za ocenu završene doktorske disertacije pod naslovom:

**“Oksitocinski receptori u paraventrikularnom jedru hipotalamusa u autonomnoj kontroli kardiovaskularnog sistema “/,, The hypothalamic oxytocin receptors in the paraventricular nucleus (PVN) in autonomic cardiovascular control “**

kandidata dr Maje Lozić Đurić, zaposlene na Medicinskom fakultetu u Beogradu kao asistent na katedri za Farmakologiju, kliničku farmakologiju i toksikologiju. Mentor je Prof. dr Nina Japundžić-Žigon, komentor je Prof. dr David Murphy.

Komisija za ocenu završene doktorske disertacije imenovana je u sastavu:

1. Doc dr Aleksandar Trbović, docent Medicinskog fakulteta u Beogradu
2. Prof dr Miroslav Radenković, vanredni profesor Medicinskog fakulteta u Beogradu
3. Prof. dr Branko Beleslin, vanredni profesor Medicinskog fakulteta u Beogradu
4. Prof dr Dragana Bajić, redovni profesor Fakulteta tehničkih nauka u Novom Sadu
5. Prof dr Mike Ludwig, redovni profesor Univerziteta u Edinburgu, Velika Britanija

Na osnovu analize priložene doktorske disertacije, komisija za ocenu završene doktorske disertacije jednoglasno podnosi Naučnom veću Medicinskog fakulteta sledeći

## IZVEŠTAJ

### A) Prikaz sadržaja doktorske disertacije

Doktorska disertacija dr Maje Lozić Đurić napisana je na engleskom jeziku i podeljena je na sledeća poglavlja: uvod, hipoteza i ciljevi rada, materijal i metode, rezultati, diskusija, zaključci i literatura. U skladu sa članom 20 Pravilnika o sticanju naučnog naziva „doktor medicinskih nauka“ Medicinskog fakulteta Univerziteta u Beogradu, u disertaciju su uključeni i izvod uvoda, prevod radne hipoteze, kratak sažetak rezultata i zaključci na srpskom jeziku. Doktorska disertacija sadrži sažetak na engleskom i srpskom jeziku, biografiju kandidata, podatke o komisiji i spisak skraćenica korišćenih u tekstu.

**U uvodu** su pregledno izložena postojeća znanja o paraventrikularnom jedru hipotalamusa-o morfološkim karakteristikama jedra, njegovoj funkciji, kao i vezama sa drugim strukturama Centralnog nervnog sistema. Poseban osvrt je dat na ulogu hipotalamičkog paraventrikularnog jedra u autonomnoj kontroli kardiovaskularnog sistema. U podpoglavljju posvećenom oksitocinskom sistemu, predstavljena je uloga oksitocina kao hormona, neuromodulatora i neurotransmitera, a posebna pažnja je posvećena oksitocinskim receptorima-njihovoj strukturi, signalnoj transdukciji, distribuciji.

Hipoteza i **ciljevi rada** su jasno i precizno definisani. Pod pretpostavkom da će selektivna blokada oksitocinskih receptora, ili pak povećanje gustine oksitocinskih receptora u paraventrikularnom jedru hipotalamusa značajno menjati autonomnu

kontrolu krvnog pritiska i srčane frekvencije, postavljeni su ciljevi koji se zasnivaju na ispitivanju efekata na kratkoročni varijabilitet i funkcionisanje baroreceptorskog refleksa u slučaju povećanja broja oksitocinskih receptora u paraventrikularnom jedru hipotalamusa, selektivne blokade hiperekspimiranih receptora, kao i selektivne blokade oksitocinskih receptora kod životinja koje nisu podvrgnute genskom transferu.

U poglavlju **Materijal i metode** navedeno je da su eksperimenti sprovedeni na pacovima, na Institutu za farmakologiju, kliničku farmakologiju i toksikologiju Medicinskog fakulteta u Beogradu, a u skladu sa etičkim principima i smernicama za brigu o životinjama. Detaljno su opisani uslovi čuvanja laboratorijskih životinja, kao i hirurške procedure ugradnje radiotelemetrijskog uređaja u abdominalnu aortu pacova, te stereotaksička hirurška procedura i *in vivo* genski transfer adenovirusnih vektora u paraventrikularno jedro hipotalamusa. Poglavlje sadrži i opis postupka konstrukcije adenovirusnih vektora, kao i metode dokazivanja uspešnosti *in vivo* genskog transfera oksitocinskih receptora u paraventrikularno jedro hipotalamusa, tačnije potvrdu povećanja translacije oksitocinskih receptora metodom lančane polimerazne reakcije u realnom vremenu, kao i imunohistohemijsku potvrdu uspešnosti transkripcije oksitocinskih receptora. Eksperimentalni protokol koji podrazumeva registraciju kardiovaskularnih parametara tokom perioda mirovanja i prilikom izlaganja stresu je opisan, kao i način obrade signala, metode procene kratkoročnog srčanog varijabiliteta i funkcionisanja baroreceptorskog refleksa. Posebno podpoglavlje posvećeno je statističkoj obradi dobijenih podataka.

U poglavlju **Rezultati** detaljno su opisani i jasno predstavljeni svi dobijeni rezultati.

**Diskusija** je napisana jasno i pregledno, uz prikaz podataka drugih istraživanja sa uporednim pregledom dobijenih rezultata doktorske disertacije.

**Zaključci** sažeto prikazuju najvažnije nalaze koji su proistekli iz rezultata rada. Korišćena **literatura** sadrži spisak od 93 reference.

## **B) Kratak opis postignutih rezultata**

Rezultati istraživanja pokazali su da su efekti oksitocina primenjenog u paraventrikularno jedru hipotalamusa pacova porast arterijskog krvnog pritiska i srčane frekvencije. Ovaj efekt je najverovatnije rezultat aktivacije oksitocinskih receptora na nivou hipotalamičkog paraventrikularnog jedra, s obzirom da prethodna blokada oksitocinskih receptora selektivnim antagonistom nije dovela do navedenih promena kardiovaskularnih parametara.

Povećanje ekspresije oksitocinskih receptora u paraventrikularnom jedru hipotalamusa je dovelo do povećanja vrednosti sistolnog, srednjeg arterijskog krvnog pritiska i senzitivnosti baroreceptorskog refleksa tokom perioda mirovanja u grupi transfeciranih životinja u odnosu na kontrolne. Akutni emocionalni stres, u vidu izlaganja mlazu vazduha pod pritiskom, je uzrokovao povećanje vrednosti krvnog pritiska (sistolnog, dijastolnog i srednjeg), kao i porast vrednosti srčane frekvencije u eksperimentalnoj i kontrolnim grupama životinja.. Pad osetljivosti baroreceptorskog refleksa u kontrolnim grupama životinja, nije registrovan kod životinja sa povećanim brojem oksitocinskih receptora u paraventrikularnom jedru. Spektralna analiza kratkoročnog varijabiliteta je pokazala da je pod bazalnim fiziološkim uslovima u grupi transfeciranih životinja varijabilitet krvog pritiska snižen, prvenstveno usled sniženja u VLF-BP spektralnom domenu. Akutni stres je uzrokovao značajan porast srčanog varijabiliteta, kao i varijabiliteta krvnog pritiska u svim grupama životinja, ali je u grupi transfeciranih životinja porast u LF-BP bio manje izražen nego kod kontrola, sugerišući manje izražen uticaj simpatikusa na krvne sudove.

Primena selektivnog antagoniste u grupi životinja sa vektorski-posredovanim povećanjem broja oksitocinskih receptora je dovela do smanjenja osetljivosti baroreceptorskog refleksa i povećanja kratkoročnog varijabiliteta tokom bazalnih uslova i prilikom izlaganja stresu, čime je pokazana funkcionalnost transfeciranih receptora.

### **C) Uporedna analiza doktorske disertacije sa rezultatima iz literature**

Poznato je da su oksitocinski receptori prisutni u paraventricularnom jedru hipotalamusa (Van Leeuwe *et al.*, 1985; Freund-Mercier *et al.*, 1987; Tribollet *et al.*, 1988; Yoshimura *et al.*, 1993; Adan *et al.*, 1995), gde učestvuju u endogenim mehanizmima autoregulacije (Richard *et al.*, 1997). Anatomske i elektrofiziološke studije su pokazale da približno 40% neurona koji se iz paraventricularnog jedra projektuju u kičmenu moždinu sadrži iRNK potrebnu za sintezu oksitocina, ukazujući pritom na potencijalno značajnu ulogu oksitocinskog sistema u autonomnoj regulaciji krvnog pritiska (Pyner, 2009). Rezultati ove disertacije po prvi put pokazuju da promena gustine receptora u paraventricularnom jedru moduliše neurogenu kontrolu cirkulacije.

Mikroinjekcije oksitocina u predeo nucleus tractus solitarii i dorzalnog vagalnog jedra dovele su do refleksne bradikardije nastale stimulacijom oksitocinskih receptora (Higa *et al.*, 2002), dok su eksperimenti na *knock-out* miševima za oksitocin pokazale oslabljenu funkciju barorefleksa (Michelini *et al.*, 2003). Rezultati ove disertacije upućuju na povećanje osetljivosti baroreceptorskog refleksa pod bazalnim uslovima nastalo usled povećanja broja oksitocinskih receptora, efekt koji je moguće poništiti upotrebom selektivnog antagoniste oksitocinskih receptora.

Autor disertacije je opisao smanjenje skoka varijabiliteta krvnog pritiska, u vidu smanjenog uticaja simpatikusa na krvne sudove u LF domenu, nastalog u sklopu

stresnog odgovora u grupi pacova sa hiperekspresijom oksitocinskih receptora Mikroinfuzije oksitocinskog antagoniste kod netransfeciranih životinja su sprečile porast DBP tokom stresa, usporile srčanu frekvenciju i dovele do porasta srčanog varijabiliteta, praćenog porastom LF/HF indeksa, što upućuje na pretpostavku da oksitocin u stresu stimuliše dejstvo vagusa na srce. Porast vagalnog uticaja na srce tokom izlaganja stresoru je pokazano da ima zaštitnu ulogu i ublažava naglašenu simpatičku stimulaciju, najverovatnije posredstvom holinergičke stimulacije sinteze azot-oksida u srčanim komorama (Brack *et al.*, 2012). Ovakvo protektivno dejstvo vagusa pokazalo se presudnim za očuvanje života tokom srčane ishemije , kada simpatička prevaga može inicirati nastanak poremećaja ritma ili iznenadne srčane smrti. Ova pretpostavka je potkrepljena rezultatima studije Wsol i saradnika (2009). Rezultati predstavljene disertacije se podudaraju sa brojnim studijama na životinjama koje ukazuju na pretpostavku da oksitocin aktivira anti-stresni odgovor. (Grippio *et al.*, 2009; Lee *et al.*, 2005; Windle *et al.*, 1997; 2004). Kliničke studije, takođe, podržavaju mišljenje o oksitocinu kao antistresnom hormonu. Altemus i saradnici (2001) su objavili da kod žena tokom perioda dojenja prevladava parasimpatička kontrola na srce , dok su Grewen and Light (2011) otkrili da su više vrednosti plazma koncentracije oksitocina kod žena u laktaciji bile povezane sa nižom kardiovaskularnom reaktivnošću na stres.

#### **D) Objavljeni radovi koji čine deo doktorske disertacije**

Lozic M, Greenwood M, Sarenac O, Martin A, Hindmarch C, Tasic T, Paton J, Murphy D, Japundzic-Zigon N (2014). Overexpression of oxytocin receptors in the hypothalamic PVN increases baroreceptor reflex sensitivity and buffers BP variability in conscious rats. *British Journal of Pharmacology* 171(19): 4385-98

## **E) Zaključak (obrazloženje naučnog doprinosa)**

Doktorska disertacija **“Oksitocinski receptori u paraventricularnom jedru hipotalamusa u autonomnoj kontroli kardiovaskularnog sistema”** dr Maje Lozić Đurić predstavlja originalni naučni doprinos u razumevanju mehanizama autonomne kontrole kardiovaskularnog sistema. U studiji je po prvi put pokazano da oksitocinski receptori u paraventricularnom jedru hipotalamusa učestvuju u neurogenoj kontroli cirkulacije.

Rezultati predstavljene doktorske disertacije mogu biti od koristi razvoju novih terapijskih pristupa u prevenciji i lečenju kardiovaskularnih oboljenja koja nastaju usled disbalansa autonomne kardiovaskularne regulacije.

Ova doktorska disertacija je urađena prema svim principima naučnog istraživanja. Ciljevi su bili precizno definisani, naučni pristup je bio originalan i pažljivo izabran, a metodologija rada je bila savremena. Rezultati su pregledno i sistematično prikazani i diskutovani, a iz njih su izvedeni odgovarajući zaključci.

Na osnovu svega navedenog, i imajući u vidu dosadašnji naučni rad kandidata, komisija predlaže Naučnom veću Medicinskog fakulteta Univerziteta u Beogradu da prihvati doktorsku disertaciju dr Maje Lozić Đurić i odobri njenu javnu odbranu radi sticanja akademske titule doktora medicinskih nauka.

U Beogradu, 04.06.2015.

Članovi Komisije:

Doc dr Aleksandar Trbović

---

Prof dr Miroslav Radenković

---

Prof. dr Branko Beleslin

---

Prof. dr Dragana Bajić

---

Prof dr Mike Ludwig

---

Mentor:

Prof. dr Nina Japundžić-Žigon

---

Komentor:

Prof dr David Murphy

---