

**NAUČNOM VEĆU MEDICINSKOG FAKULTETA
UNIVERZITETA U BEOGRADU**

Na sednici Naučnog veća Medicinskog fakulteta u Beogradu, održanoj dana 11.03.2020. godine, broj 9700/07-SS, imenovana je komisija za ocenu završene doktorske disertacije pod naslovom:

„Ekscitatorno dejstvo 2,4-diaminobuterne kiseline na Retzius-ove neurone i mehanizmi njegovog nastanka“

kandidata asistenta dr Svetolika Spasića, zaposlenog na Katedri za patološku fiziologiju, Medicinskog fakulteta, Univerziteta u Beogradu. Mentor doktorske disertacije je prof. dr Srđan Lopičić.

Komisija za ocenu završene doktorske disertacije imenovana je u sastavu:

1. Prof. dr Jelena Nešović Ostojić, vanredni profesor Medicinskog fakulteta Univerziteta u Beogradu
2. Prof. dr Gordana Dragović Lukić, vanredni profesor Medicinskog fakulteta Univerziteta u Beogradu
3. Prof. dr Zorica Svirčev, redovni profesor Prirodno-matematičkog fakulteta Univerziteta u Novom Sadu

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 asistenta dr Svetolika Spasića napisana je na 102 strane i podeljena je na sledeća poglavlja: Uvod, Ciljevi, Materijal i metode, Rezultati, Diskusija, Zaključci i Literatura. U disertaciji se nalazi ukupno petnaest slika, osam tabela i pet grafika. Doktorska disertacija sadrži sažetak na srpskom i engleskom jeziku, podatke o mentoru i komisiji, biografiju kandidata, spisak skraćenica korišćenih u tekstu i izjave o autorstvu, istovetnosti i korišćenju.

U poglavlju **Uvod** su prikazani trenutni stavovi o ulozi ekscitatornih aminokiselina u etiologiji i patogenezi neurodegenerativnih oboljenja, kao i opis fenomena ekscitotoksičnosti koji predstavlja mogući mehanizam dejstva ovih aminokiselina u nastanku neurodegeneracije. Zatim je pružen kratak osvrt na ulogu aminokiseline β -N-metilamino-L-alanina (BMAA), strukturnog izomera 2,4-diaminobuterne kiseline (2,4-DABA), u nastanku i razvoju Zapadnopacifičkog kompleksa amiotrofična lateralna skleroza, parkinsonizam i demencija (ALS/PDC) i na pretpostavljene mehanizme njenog dejstva. U daljem tekstu posebna pažnja posvećena je karakteristikama i sveprisutnosti cijanobakterija, koje su glavni proizvođači BMAA i 2,4-DABA u životnoj sredini, kao i sledstvenoj globalnoj rasprostranjenosti 2,4-DABA u vodenim i kopnenim ekosistemima u kontekstu moguće izloženosti ljudi ovoj aminokiselini. U narednom delu Uvoda sistematično su prikazani najznačajniji nalazi dosadašnjih eksperimentalnih *in vivo* i *in vitro* studija o neurotoksičnom i citolitičkom dejstvu 2,4-DABA i mogućim mehanizmima njihovog nastanka. Najzad, naglašena je potreba za izvođenjem nedostajućih elektrofizioloških ispitivanja učinka 2,4-DABA na neuronima, kao i mehanizama kojim ova aminokiselina postiže ta dejstva.

Ciljevi istraživanja su precizno definisani. Sastoje se u ispitivanju učinaka 2,4-diaminobuterne kiseline (2,4-DABA) na membranski potencijal Retzius-ovih neurona, ispitivanju postojanja funkcionalnog oporavka ćelija nakon njene primene, kao i postojanja koncentracione zavisnosti pomenutih efekata ove aminokiseline. Takođe, jedan od ciljeva je uporedna analiza dejstva L-2,4-DABA i DL-2,4-DABA na membranski potencijal Retzius-

ovih neurona. Za rasvetljavanje mehanizama dejstva 2,4-DABA, postavljeni su ciljevi koji se sastoje u ispitivanju uticaja uklanjanja jona natrijuma iz ekstraćelijskog medijuma na dejstvo 2,4-DABA, ispitivanju učinka 2,4-DABA na ulazni otpor membrane Retzius-ovih neurona i ispitivanju uticaja blokade jonotropnih glutamatnih receptora te transportnog sistema za neutralne aminokiseline na dejstvo 2,4-DABA na Retzius-ovim neuronima.

U poglavlju **Materijal i metode** detaljno je opisan eksperimentalni protokol izvođenja ogleđa na Retzius-ovim neuronima pijavice *Haemopsis sanguisuga*. Prvo je prikazan postupak anestezisanja životinje, preparacije u cilju izolovanja glavenih segmenata nervne vrpce i identifikovanja Retzius-ovih neurona u ganglionima. Zatim su precizno opisane procedure primenjenih metoda klasične elektrofiziologije – unutarćelijsko registrovanje membranskog potencijala i električne aktivnosti Retzius-ovih neurona, kao i metoda strujnog uklještenja (engl. *current clamp*). Objasnjeno je postupak izračunavanja ulaznog otpora direktno električno stimulisane membrane ćelije. Navedeni su električni uređaji nepohodni za registrovanje i draženje. Prikazan je sastav korišćenih rastvora i precizno opisan način njihovog primene tokom ogleđa. Ukratko je prikazan princip statističke analize rezultata i konstruisanja koncentraciono-zavisnih krivulja dejstva.

U poglavlju **Rezultati** tekstualno su detaljno opisani i jasno predstavljeni svi dobijeni rezultati, uz adekvatne tabelarne i grafičke prikaze istih.

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

Poglavljje **Zaključci** sažeto prikazuje najvažnije nalaze koji su proistekli iz rezultata rada, a koji su u skladu sa navedenim ciljevima istraživanja.

Korišćena **literatura** sadrži spisak od 238 referenci.

B) Kratak opis postignutih rezultata

Rezultati ove doktorske disertacije pokazuju da 2,4-diaminobuterna kiselina (2,4-DABA) ima potentno ekscitatorno dejstvo na Retzius-ove neurone, budući da izaziva izraženu depolarizaciju membranskog potencijala, ubrzanje frekvence spontane električne aktivnosti

ćelija i dovodi do nastanka depolarizacionog bloka. Depolarizacija membranskog potencijala neurona izlaganih koncentracijama 2,4-DABA većim od 10^{-3} mol/L razvijala se kroz dve istaknute faze, koje se nadovezuju jedna na drugu, što je prvi put opisan ekscitatorni fenomen na ovom eksperimentalnom modelu. Takođe, pokazano je da membranska depolarizacija izazvana 2,4-DABA ima koncentraciono-zavisnu prirodu. Uporednom analizom učinaka 2,4-DABA sa dejstvima endogenih (glutamat i aspartat) i sredinskih (β -N-metilamino-L-alanin, BMAA i β -N-oksalilamino-L-alanin, BOAA) aminokiselina na ovom eksperimentalnom modelu, uočeno je da je 2,4-DABA višestruko efikasnija. Zapaženo je da prva faza depolarizacije membrane izazvane 2,4-DABA amplitudom odgovara maksimalnom učinku pomenutih ekscitatornih aminokiselina, dok je druga faza depolarizacije membranskog potencijala bila višestruko jača.

Retzius-ovi neuroni izlagani većim koncentracijama 2,4-DABA ($5 \cdot 10^{-3}$ i 10^{-2} mol/L) pokazivali su izostanak funkcionalnog oporavka – po nastanku depolarizacionog bloka javljalo se odsustvo ponovnog uspostavljanja mirovnih vrednosti membranskog potencijala i spontanog izbijanja akcionih potencijala. Pošto izlaganje ćelija manjim koncentracijama (10^{-3} i $3 \cdot 10^{-3}$ mol/L) ove aminokiseline nije izazivalo opisane učinke, ukazano je da i funkcionalni oporavak Retzius-ovih neurona izlaganih 2,4-DABA ima koncentraciono-zavisne odlike.

Takođe, prikazani rezultati su pokazali da direktna primena DL- i L- izoformi 2,4-DABA izazivaju istovetne ekscitatorne učinke na Retzius-ove neurone.

Rezultati istraživanja mehanizama ekscitatornog dejstva 2,4-DABA na ovom eksperimentalnom modelu, ukazali su da ekscitatorni efekti zavise od prisustva jona natrijuma u ekstraćelijskom odeljku, pošto odsustvo jona natrijuma u vanćelijskom rastvoru drastično smanjuje jačinu depolarizacije membrane i poništava njenu dvofaznu prirodu. Takođe, u rezultatima disertacije opisano je značajno smanjenje ulaznog otpora direktno polarizovane membrane Retzius-ovih neurona tokom izlaganja 2,4-DABA.

Primena antagoniste non-NMDA glutamatnih receptora 6-cijano-7-nitrokvinoxalin-2,3-diona (CNQX) zajedno sa 2,4-DABA dovela je do značajnog smanjenja prve faze depolarizacije, dok druga faza nije bila značajno izmenjene amplitude. Rezultati istovremenog

izlaganja Retzius-ovih neurona 2,4-DABA i kompetitivnom inhibitoru natrijum-zavisnog transportnog sistema za neutralne aminokiseline L-alaninu, pokazali su značajno umanjeње amplitude druge faze membranske depolarizacije ćelija, dok prva faza depolarizacije nije bila značajno manja. Na osnovu ovih rezultata pretpostavljeno je da prva faza membranske depolarizacije izazvane 2,4-DABA nastaje aktivacijom jontorponih glutamatnih receptora, a druga faza depolarizacije aktivacijom elektrogenog transportnog sistema za neutralne aminokiseline.

C) Uporedna analiza doktorske disertacije sa rezultatima iz literature

Uvidom u naučnu literaturu, može se zaključiti da postoji nedostatak detaljnijih *in vitro* elektrofizioloških ispitivanja dejstva 2,4-diaminobuterne kiseline (2,4-DABA) na neurone. Izražen ekscitatorni učinak 2,4-DABA na Retzius-ovim neuronima pokazan u ovoj doktorskoj disertaciji na osnovu rezultata *in vitro* elektrofizioloških istraživanja, u saglasnosti je sa pojavom hiperekscitabilnosti, tremora i konvulzija, opisanih kod eksperimentalnih životinja u većini *in vivo* ispitivanja neurotoksičnosti ove aminokiseline (Riggs i sar., 1954; Ressler i sar., 1961; O'Neal i sar., 1968.; Chen i sar., 1972; Beart i sar., 1977; Johnston i sar., 1977; Ronquiste i sar., 1980). Direktno izlaganje Retzius-ovih neurona DL- i L- izoformama 2,4-DABA pokazalo je istovetne ekscitatorne učinke, što je u saglasnosti sa *in vivo* istraživanjem Chen i saradnika (1972), gde je primena D- i L-izoforni 2,4-DABA direktno u moždane komore pacova izazivala znake hiperekscitabilnosti životinja. Direktno izlaganje Retzius-ovih neurona 2,4-DABA u eksperimentima prikazanim u doktorskoj disertaciji opravdano je, pošto je prisustvo ove aminokiseline pokazano u mozgovima eksperimentalno supkutano tretiranih pacova (Vivanco i sar., 1966) ili intravenski tretiranih miševa (Appelgren i sar., 1982), kao i mozgu riba koje su sredinski izložene ovoj aminokiselini jer nastanjuju jezera poznata po „cvetanju“ cijanobakterija koje proizvode 2,4-DABA (Banack i sar., 2015). Nasuprot ovim nalazima, O'Neal i saradnici (1968) su postulirali da 2,4-DABA ne deluje direktno na neurone, već da dovodi do oštećenja jetre, smanjujući njene metaboličke aktivnosti što uzrokuje nastanak endogene intoksikacije amonijakom, koji utiče na nervni sistem pacova. Međutim, već njihovi dalji rezultati ukazuju na direktno dejstvo 2,4-DABA jer znaci hipereskcitabilnosti intraperitonealno tretiranih životinja nisu bili praćeni histopatološkim

znacima oštećenja jetre, a zapaženi su gubitak neurona i demijelinizacija u svim ispitivanim delovima hipokampusa, dok je u uzorcima moždanog tkiva 2,4-DABA bila prisutna.

Elektrofiziološka ispitivanja učinaka drugih ekscitatornih aminokiselina koji se danas smatraju sredinskim neurotoksinima - domoične kiseline (Debonnel i sar., 1989), β -N-oksalilamino-L-alanina (BOAA, Lopicic i sar., 2009) i β -N-metilamino-L-alanina (BMAA, Lopicic i sar., 2009), ukazuju da je jedan od najznačajnijih mehanizama njihovog neurotoksičnog dejstva ekscitotoksičnost. Kako je u ovoj disertaciji pokazano da 2,4-DABA izaziva izuzetno jaku depolarizaciju membrane neurona, pretpostavljeno je da i ova aminokiselina može izazvati ekscitotoksičnost. Takođe, rezultati ove doktorske disertacije pokazuju da 2,4-DABA dovodi do znatno jače depolarizacije membranskog potencijala Retzius-ovih neurona od ranije ispitivanih endogenih (glutamat, aspartat) i sredinskih (BOAA, BMAA) aminokiselina na istom modelu (Lopicic i sar., 2009). Rezultati koji pokazuju nepotpun i potpun izostanak funkcionalnog oporavka Retzius-ovih neurona izlaganih većim koncentracijama ove aminokiseline ($5 \cdot 10^{-3}$ mol/L i 10^{-2} mol/L, respektivno), ukazuju na neurotoksični potencijal 2,4-DABA i odgovaraju nalazima Ronquist i saradnika (1980) koji su takođe opazili delimičan gubitak vijabilnosti ćelija fibrosarkoma izlaganih 5 mM, odnosno potpuni gubitak vijabilnosti ćelija tretiranih sa 10 mM ove aminokiseline.

Ekscitatorni učinak 2,4-DABA na Retzius-ove neurone ogleda se u depolarizaciji membranskog potencijala koja se razvija u dve faze, koje se nadovezuju jedna na drugu. Ovo je, prema uvidu u dostupnu naučnu literaturu, po prvi put opisan fenomen u smislu ekscitatornog dejstva aminokiselina na ovom modelu. Pojava dvofazne depolarizacije navodi na sumnju da se u osnovi ovog ekscitatornog efekta 2,4-DABA na Retzius-ovim neuronima nalazi više od jednog mehanizma.

Jedino prethodno elektrofiziološko ispitivanje u kom je primenjivana i 2,4-DABA (Weiss i sar., 1989) pretpostavilo je da je ekscitatorni efekat posredovan aktivacijom jonotropnih glutamatnih receptora, ali i da postoji mogućnost da se deo učinka ove aminokiseline odvija mehanizmima van glutamatnih receptora. Nalazi James i saradnika (1979) ukazuju da se depolarizacija i povećana propustljivost membrane Retzius-ovog neurona izazvana glutatom odvijaju aktivacijom jontoropnih glutamatnih receptora non-

NMDA tipa. Sa druge strane, brojne *in vitro* studije, uključujući i one na nervnom sistemu pokazale su destruktivne efekte 2,4-DABA, usled nekontrolisanog preuzimanja ove kiseline preko transportnog sistema za neutralne aminokiseline (Christensen i sar., 1966; Naeslund i sar., 1979; Ronquist i sar., 1980; Ronquist i sar., 1984; Antoni i sar., 1997). U rezultatima doktorske disertacije pretpostavljeni mehanizmi ekscitatornog dejstva 2,4-DABA na Retzius-ove neurone su aktivacija jonotropnih glutamatnih receptora i natrijum-zavisnog transportera za neutralne aminokiseline. Istraživanje ovih mehanizama obuhvatilo je niz elektrofizioloških ispitivanja: uticaj odsustva natrijumovih jona na depolarišuće dejstvo ove aminokiseline, uticaj 2,4-DABA na ulazni otpor membrane ćelija i uticaj inhibitora jonotropnih glutamatnih receptora i elektrogenog transportnog sistema za neutralne aminokiseline na dejstvo 2,4-DABA.

Značajno smanjenje amplitude depolarizacije membrane Retzius-ovih neurona izazvano 2,4-DABA u TRIS-Ringerovom rastvoru, koji ne sadrži jone natrijuma slično je opisanom umanjenju učinka drugih ekscitatornih aminokiselina za koje se smatra da deluju preko jonotropnih glutamatnih receptora na ovim ćelijama – BOAA (Cemerikic i sar., 2001), aspartata (Cemerikic i sar., 1988) i kainata (Mat Jais i sar., 1984, Kilb i sar., 1999). Dodatno, Reimer i saradnici (2000) i Zhang i saradnici (2007) pokazali su da je transportni sistem za male neutralne aminokiseline zavisan od natrijumovih jona, jer je njihova supstitucija dovođila do prekida transmembranskog transporta i ulaznih transmembranskih struja. Takođe, smanjenje koncentracije jona natrijuma u ekstraćelijskoj sredini povezivano je sa smanjenjem preuzimanja 2,4-DABA u ćelije (Christensen i sar., 1969). Izostanak potpune blokade dejstva 2,4-DABA u uslovima odsustva jona natrijuma koje prikazuju rezultati disertacije, poklapaju se sa nalazima ranijih istraživanja na Retzius-ovim neuronima pod istim uslovima, pri čemu su ispitivani učinci kainata (Kilb i sar., 1999), aspartata (Cemerikic i sar., 1988) i BOAA (Cemerikic i sar., 2001). Literaturni podaci koji bi mogli objasniti pojavu diskretne depolarizacije u TRIS-Ringerovom rastvoru govore u prilog aktivacije natrijum-nezavisnih transportera (Christensen i sar., 1969), oslobađanja jona natrijuma iz preparata tokom eksperimenta ili izlaskom jona kalijuma kroz aktivirane jonotropne receptore (Cemerikic i sar., 1988; Cemerikic i sar., 2001).

2,4-DABA dovodi do smanjenja vrednosti ulaznog otpora membrane, odnosno povećava provodljivost membrane Retzius-ovih neurona. Ovaj efekat uočen je i opisan pri izlaganju Retzius-ovih neurona brojnim agonistima jonotropnih glutamatnih receptora AMPA/kainatnog tipa, kao što su glutamat (James i sar., 1979; Mat Jais i sar., 1984), aspartat (Cemerikic i sar., 1988), α -amino-3-hidroksi-5-metil-4-izoksazolpropionat (AMPA, Mat Jais i sar., 1984), kainat (Mat Jais i sar., 1984; Lohrke i sar., 1996), BOAA (Cemerikic i sar., 2001) i BMAA (Nedeljkov i sar., 2005; Lopicic i sar., 2009). Literaturni podaci potvrđuju i da aktivacija transportnog sistema A za neutralne aminokiseline acinarnih ćelija pankreasa smanjuje ulazni otpor membrane ćelija (Iwatsuki i sar., 1980), a kod ćelija plivajuće jetrenjače povećava membransku provodljivost (Felle, 1981).

Literaturni podaci govore u prilog činjenici da su opisani natrijum-zavisni učinak 2,4-DABA na membranski potencijal Retzius-ovih neurona i umanjenje ulaznog otpora membrane povezani sa aktivacijom jonotropnih glutamatnih receptora i/ili elektrogenog transportnog sistema za male aminokiseline. Rezultati ove doktorske disertacije detaljnije ukazuju na mehanizam svake od faza depolarizacije primenom njihovih specifičnih inhibitora.

Primena 2,4-DABA zajedno sa 6-cijano-7-nitrokvinoxalin-2,3-dionom (CNQX), kompetitivnim antagonistom jonotropnih glutamatnih (AMPA/kainatnih) receptora, dovela je do značajnog smanjenja amplitude prve faze depolarizacije membranskog potencijala, dok se nije ispoljavalo suprimirajuće dejstvo CNQX na jačinu druge faze depolarizacije membrane izazvane 2,4-DABA. Rezultati ovih eksperimenata takođe pokazuju da inhibitorski uticaj CNQX na učinke 2,4-DABA nije potpun. Ova pojava i ranije je pokazana pri ispitivanju CNQX-posredovane inhibicije ekscitatornog dejstva BMAA (Lopicic i sar., 2009), kainata i glutamata (Dorner i sar., 1990; Dorner i sar., 1994) na Retzius-ovim neuronima. Weiss i saradnici (1989) opisali su umanjenje ekscitatornih efekata 2,4-DABA na neuronima, koji su prethodno bili izloženi kinurenatu, neselektivnom antagonisti jonotropnih glutamatnih receptora. Rezultati takođe pokazuju da je prva faza depolarizacije membranskog potencijala izazvane 2,4-DABA po vrednosti amplitude i sveukupnim karakteristikama vrlo slična maksimalnom učinku drugih ekscitatornih aminokiselina ispitivanih na Retzius-ovim neuronima (Nedeljkov i sar., 1979; Cemerikic i sar., 1988; Dierkes i sar., 1996; Cemerikic i

sar., 2001; Lopicic i sar., 2009), a za koje se pretpostavlja da svoje dejstvo ispoljavaju aktivacijom jonotropnih glutamatnih receptora. Stoga je osnovu pomenutih literaturnih podataka i rezultata eksperimenata pretpostavljeno da 2,4-DABA izaziva depolarizaciju membranskog potencijala Retzius-ovih neurona, pri čemu je prva faza posredovana aktivacijom jonotropnih glutamatnih receptora, AMPA/kainatnog tipa. Poznato je da preterana aktivacija jonotropnih glutamatnih receptora dovodi do pojave ekscitotoksičnosti.

Primena ekvimolarne koncentracije L-alanina uz 2,4-DABA, pokazala je značajno smanjenje jačine druge faze depolarizacije membranskog potencijala Retzius-ovih neurona izazvanih 2,4-DABA. Sa druge strane, L-alanin nije pokazivao značajan suprimirajući efekat na prvu fazu membranske depolarizacije ćelija. Rezultati ovog elektrofiziološkog istraživanja su, prvi koji pokazuju inhibitorni učinak L-alanina na depolarizaciju membranskog potencijala izazvanu 2,4-DABA. Ova aminokiselina pogodan je supstrat za natrijum-zavisni transporter malih, neutralnih aminokiselina, što potvrđuju brojne *in vitro* studije, uključujući i one na eksperimentalnim modelima nervnog sistema, opisujući nesaturabilnu kinetiku preuzimanja 2,4-DABA u ćelije pomoću transportnog sistema A (TSA), koju je mogao inhibirati alanin (Christensen i sar., 1966; Naeslund i sar., 1979; Ronquist i sar., 1980; Ronquist i sar., 1984; Antoni i sar., 1997). U rezultatima ove disertacije objašnjava se mogući mehanizam transporta 2,4-DABA i jona natrijuma preko pomenutog elektrogenog transportnog sistema, gde pošto pri fiziološkim vrednostima pH 2,4-DABA preuzima dipolarnu, „zwitter” formu, postajući pogodan supstrat za transportni sistem A (TSA), koji pored ovog zahteva i kotransport jona natrijuma (Christensen i sar., 1973). Literaturni podaci o nesaturabilnoj kinetici preuzimanja 2,4-DABA preko natrijum-zavisnog transportnog sistema za neutralne aminokiseline čiju aktivnost ograničava L-alanin i nalaz eksperimenata da L-alanin ispoljava inhibitorni učinak na drugu fazu membranske depolarizacije doveli su do zaključka da je druga faza depolarizacije membrane Retzius-ovih neurona posredovana aktivacijom elektrogenog, natrijum-zavisnog transportera za neutralne aminokiseline (TSA) ili nekog srodnog transportera.

D) Objavljeni radovi koji čine deo doktorske disertacije

1. **Spasic S**, Stanojevic M, Nesovic Ostojevic J, Kovacevic S, Prostran M, Lopacic S. Extensive depolarization and lack of recovery of leech Retzius neurons caused by 2,4-diaminobutyric acid. *Aquatic Toxicology*. 2018;199:269-275.

doi: 10.1016/j.aquatox.2018.03.036 (M21a, IF 3.794)

2. **Spasic S**, Stanojevic M, Nesovic Ostojevic J, Kovacevic S, Todorovic J, Dincic M, Prostran M, Nedeljkov V, Lopacic S. Two distinct electrophysiological mechanisms underlie extensive depolarization elicited by 2,4-diaminobutyric acid in leech Retzius neurons. *Aquatic Toxicology*. 2020;220:105398. doi:10.1016/j.aquatox.2019.105398 (M21a, IF)

E) Zaključak (obrazloženje naučnog doprinosa)

Doktorska disertacija „**Ekscitatorno dejstvo 2,4-diaminobuterne kiseline na Retzius-ove neurone i mehanizmi njegovog nastanka**“ dr Svetolika Spasić predstavlja originalni naučni doprinos u razumevanju elektrofizioloških učinaka 2,4-diaminobuterne kiseline (2,4-DABA) na Retzius-ove neurone i mehanizama koji leže u osnovi njihovog nastanka. Rezultati ove doktorske disertacije, predstavljaju prvi detaljan elektrofiziološki uvid u ekscitatorne efekte 2,4-DABA na neuronima i potencijalne mehanizme koji se nalaze u osnovi ovih efekata. Ovo istraživanje opisuje izraženu depolarizaciju neurona, koja se razvija u dve karakteristične faze što je prvi put opisan ekscitatorni fenomen na ovom modelu. Elektrofiziološka ispitivanja mehanizama depolarizacionog učinka 2,4-DABA ispitivanjem aktivacije jonotropnih glutamatnih receptora i elektrogenog transportnog sistema za neutralne aminokiseline, kao mogućih mehanizama ekscitatornog dejstva, predstavljaju značajan korak ka boljem razumevanju neurotoksičnog potencijala ove sredinske aminokiseline. Doktorska disertacija upoređuje i povezuje elektrofiziološka ispitivanja 2,4-DABA i drugih endogenih i sredinskih ekscitatornih aminokiselina ističući značaj fenomena ekscitotoksičnosti u oštećenju neurona i nastanku neurodegenerativnih oboljenja. Imajući u vidu globalno prisustvo 2,4-diaminobuterne kiseline i povećan rizik izlaganja ljudi i životinja kako ovom sredinskom neurotoksičnom faktoru tako i ubikvitarnim cijanobakterijama koje ga proizvode, rezultati

doktorske disertacije imaju potencijalnu važnost za razumevanje uloge 2,4-DABA u neurodegeneraciji i njenog značaja u etiologiji i patogenezi neurodegenerativnih bolesti.

Doktorska disertacija dr Svetolika Spasića urađena je u skladu sa principima naučnog istraživanja. Ciljevi su precizno definisani, naučni pristup je originalan i pažljivo izabran, a metodologija rada je 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 Svetolika Spasića i odobri njenu javnu odbranu radi sticanja akademske titule doktora medicinskih nauka.

U Beogradu, 25.03.2020. godine

Članovi Komisije:

Prof. dr Jelena Nešović Ostojić

Prof. dr Gordana Dragović Lukić

Prof. dr Zorica Svirčev

Mentor:

Prof. dr Srđan Lopičić
