

**НАУЧНОМ ВЕЋУ МЕДИЦИНСКОГ ФАКУЛТЕТА
УНИВЕРЗИТЕТА У БЕОГРАДУ**

На седници Научног већа Медицинског факултета у Београду, одржаној дана 05.07.2022. године, број 11/VII-3/2-ЈП, именована је комисија за оцену завршене докторске дисертације под насловом:

„ Морфолошке, биохемијске и бихејвиоралне промене у медијалном префронталном и орбитофронталном кортексу мозга пацова условљене матерналном депривацијом “

кандидата др Јока Полексића, запосленог на Медицинском факултету у Београду у звању асистента на катедри за ужу научну област Анатомија. Ментор ове докторске тезе је проф. др Милан Аксић, коментор је проф. др Бранка Марковић.

Комисија за оцену завршене докторске дисертације именована је у саставу:

1. Доц. др Дубравка Алексић, доцент Медицинског факултета у Београду
2. Доц. др Татјана Николић, доцент Медицинског факултета у Београду
3. Проф. др Маја Вуловић, професор Факултета медицинских наука у Крагујевцу

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 Јока Полексића написана је на 102 стране и подељена је на следећа поглавља: увод, циљеви рада, материјал и методе, резултати, дискусија, закључци и литература. У дисертацији се налази укупно 22 слике, 22 графикана и 15

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

У **уводу** је дефинисана повезаност између менталних поремећаја са наследном основом и трауматског искуства проживљеног током раног детињства. Дат је опис актуелних анималних модела раног трауматског искуства, као и њихов значај у изучавању етиологије менталних обољења. Упоредо је приказана функционална анатомија префронталне коре човека и пацова. Детаљно је описана имунохистохемијска и морфолошка класификација кортикалних ГАБАергичких ћелија. Истакнут је значај синаптичке пластичности префронталне коре са описом сигналне каскаде *brain derived neurotrophic factor*—а (BDNF). Прецизирана је улога микроглије у синаптичкој пластичности, са освртом на функционална стања микроглије. Описани су параметри когнитивне флексибилности мерљиви бихејвиоралним тестовима, као и централна улога префронталних интернеурона и синаптичке пластичности у њиховој регулацији.

Циљеви рада су прецизно дефинисани. Састоје се у испитивању дуготрајног утицаја матерналне депривације на густину и дистрибуцију ГАБАергичких ћелија (укупне популације и *basket* субпопулације) у различитим субрегионима префронталног кортекса мозга пацова. Циљ истраживања био је и испитивање краткорочног и дугорочног утицаја матерналне депривације на показатеље синаптичке пластичности у префронталној кори. Коначно, као циљ рада наведено је и испитивање дуготрајног утицаја матерналне депривације на функцију префронталне коре бихејвиоралном анализом способности учења, радне меморије и когнитивне флексибилности.

У поглављу **Материјал и методе** наведено је да су експерименти рађени на животињама које су добијене из узгајалишта Института за фармакологију клиничку фармакологију и токсикологију 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, груписање животиња пореклом из различитих легала, као и временски интервали подвргавања животиња експерименту и њиховог жртвовања. Детаљно је описана методологија припреме узорака за глутамат декарбоксилаза 67 (GAD67+), парвалбумин (PV+) и холецистокинин (ССК+) имунохистохемијско бојење као и начин морфолошких испитивања на микрографијама, која подразумевају квантификацију густине имунопозитивних ћелија у различитим субрегионима префронталне коре посебно за површинске и дубоке слојеве уз поштовање стереолошких принципа. Такође, применом *Western blot*-а, у префронталној кори је испитана експресија показатеља синаптичке пластичности (BDNF, Iba1) у неонаталном и младом адултном добу. Применом когнитивног теста – *Behavioral flexibility in a T-maze task* (BFTMT) испитана је когнитивна флексибилност младих адултних мужјака уз детаљан опис припреме животиња, тренинга и спровођења теста. 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 258 референци.

Б) Провера оригиналности докторске дисертације

На основу Правилника о поступку провере оригиналности докторских дисертација које се бране на Универзитету у Београду и налаза у извештају из програма iThenticate којим је извршена провера оригиналности докторске дисертације „Морфолошке, биохемијске и бихејвиоралне промене у медијалном префронталном и орбитофронталном кортексу мозга пацова условљене матерналном депривацијом”, аутора др Јока Полексића, констатујем да утврђено подударање текста износи 6%. Овај степен подударности последица је претходно публикованих резултата докторандових истраживања, који су

проистекли из његове дисертације, цитата и библиографских података о коришћеној литератури, што је у складу са чланом 9. Правилника ("Гласник Универзитета у Београду", број 204/18).

Ц) Кратак опис постигнутих резултата

Квантификација густине имунопозитивних ћелија показала је промене у испитиваним субпопулацијама интернеурона у различитим субрегионима и слојевима префронталне коре. Код матернално депривираних мужјака пронађено је смањење густине укупне интернеуронске популације (GAD67+) у целокупној дебљини орбитофронталне, као и површинским слојевима вентралне компоненте медијалне префронталне коре, у којој је пронађено и смањење густине ССК+ ћелија. У дорзалној компоненти медијалне префронталне коре стресираних животиња пронађено је смањење густине PV+ ћелија и то у површинским слојевима ростралне цингуларне коре и дубоким слојевима прелимбичке коре. Наведени резултати указују на субрегион специфичну природу промена у префронталној кори матернално депривираних животиња.

Резултати биохемијских испитивања показали су повећање синаптичке пластичности у виду усходне регулације префронталног BDNF-а код матернално депривираних мужјака и у неонаталном и у младом адултном добу. Није пронађена разлика у експресији Iba1 протеина између испитиваних група, изузев смањења експресије овог протеина у младом адултном добу које се може приписати повећањем запремине мозга.

Примена бихејвиоралног теста ВFTMT показала је очување способности учења код матернално депривираних животиња, при чему су обе испитиване групе значајно побољшале учинак током трајања тренинга. Међу испитиваним групама није пронађена разлика у броју тачних избора у тест фази испитивања, као ни током реверзне фазе. Број истрајних и регресивних грешака у реверзној фази испитивања није био промењен код матернално депривираних животиња. Иако се међу испитиваним групама просечно утрошено време до избора није разликовало ни у тест ни у реверзној фази испитивања,

post hoc анализом утврђено је да током 3. покушаја реверзне фазе матернално депривираних животиња утроше више времена до избора ручице, што указује на благи облик оштећења когнитивне флексибилности.

Наведени подаци могу бити од значаја у смислу сагледавања и разумевања етиопатогенетских механизма менталних поремећаја са развојном основом као што су схизофренија и депресија.

Д) Упоредна анализа докторске дисертације са резултатима из литературе

Ово истраживање је показало да рано трауматско искуство изазвано матерналном депривацијом проузрокује дуготрајне морфолошке промене у ГАБАергичком систему префронтале коре, праћено повећањем синаптичке пластичности и благим когнитивним дефицитом. За разлику од претходне студије у којој ниво експресије GAD67 протеина у целокупним хомогенатима префронталне коре матернално депривираних животиња није био промењен, спроведено испитивање је показало смањење густине GAD67+ ћелија и то у вентралним деловима префронталне коре без захваћености дорзалних делова (Janetsian-Fritz et al., 2018). Ова чињеница истиче значај спровођења детаљних анатомских испитивања у префронталној кори пре доношења чврстих закључака, с обзиром на структурну хетереогоност овог региона мозга. Смањена густина PV+ ћелија у дорзалним деловима префронталне коре је у складу са претходно објављеним истраживањем на 24 – часовном моделу матерналне депривације (Aksic et al., 2021), али и са студијама у којима је коришћен 3 – часовни модел одвајања током неонаталног периода (Ganguly et al., 2016; Grassi-Oliveira et al., 2016). Наведени резултати потврђују претпоставку о значају PV+ ћелија префронталне коре у процесуирању раног трауматског искуства (McKlveen et al., 2019). Добијени подаци у спроведеном истраживању представљају прве податке о утицају раног трауматског искуства на ССК+ ћелије, што истиче значај ове дисертације, поготово имајући у виду сложеност њихове имунохистохемијске локализације (Morozov and Freund, 2003). Повећање експресије префронталног BDNF-а код матернално депривираних животиња у неонаталном и младом адултном добу представља на први поглед изненађујући резултат имајући у виду претходна истраживања у којима је ниво

експресије овог неуротрофина био смањен (Marco et al., 2013) или непромењен (Roceri et al., 2002). Имајући у виду значај експресије BDNF-а у развоју, али и функцији ГАБАергичких ћелија, повећана синаптичка пластичност код матернално депривираних животиња се може протумачити као компензаторни одговор на смањење густине интернеурона префронталне коре (Rankov Petrovic et al., 2019). У префронталној кори матернално депривираних животиња, у оба испитивана узраста није дошло до промене у експресији Iba1 протеина што указује на одсуство опште микроглијалне активације. Овакав резултат је и очекиван с обзиром да су микроглијалне промене узроковане раним трауматским искуством углавном морфолошки суптилне и субрегион специфичне (Ye et al., 2019; Wang et al., 2020). Резултати бихејвиоралних испитивања су у складу са претходно објављеним студијама у којима је пронађено оштећење когнитивне флексибилности матернално депривираних животиња уз очувану способност учења (Banqueri et al., 2019; Menezes et al., 2020). С обзиром на кључну улогу префронталне коре у регулацији реверзног учења, морфолошке промене ГАБАергичког система код стресираних животиња пронађене у спроведеном истраживању могле би да представљају биолошки основ овог когнитивног дефицита. Ипак, важно је истаћи и релативно благ интензитет когнитивне нефлексибилности где потенцијално фигурира већ поменути компензаторни одговор повећане експресије BDNF-а имајући у виду његов значај у регулацији когнитивне флексибилности и функције интернеурона.

Е) Објављени радови који чине део докторске дисертације

1. **Poleksic, J.**, Aksic, M., Kapor, S., Aleksic, D., Stojkovic, T., Radovic, M., et al. (2021). Effects of Maternal Deprivation on the Prefrontal Cortex of Male Rats: Cellular, Neurochemical, and Behavioral Outcomes. *Front. Behav. Neurosci.* 15, 267. doi:10.3389/fnbeh.2021.666547. **M21 (IF=3.617)**

Ф) Закључак (образложење научног доприноса)

Докторска дисертација „**Морфолошке, биохемијске и бихејвиоралне промене у медијалном префронталном и орбитофронталном кортексу мозга пацова условљене матерналном депривацијом**“ др Јока Полексића представља оригинални научни допринос у расветљавању утицаја раног стреса на дуготрајне промене у мозгу експерименталних животиња. Комисији је задовољство да истакне да је по први пут у овој докторској тези проучен утицај раног трауматског искуства на густину ССК+ ћелија у неком можданом региону, али и детаљна квантификација испитиваних ГАБАергичких ћелија у различитим подрегионима префронталне коре коју карактерише структурна и функционална хетерогеност. Приказани су краткотрајни и дуготрајни ефекти матерналне депривације на синаптичку пластичност префронталне коре, као и когнитивне последице наведених морфолошких и биохемијских промена. 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 Јока Полексића и одобри њену јавну одбрану ради стицања академске титуле доктора медицинских наука.

У Београду, 15.7.2022.године

Чланови Комисије:

Доц. др Дубравка Алексић

Доц. др Татјана Николић

Проф. др Маја Вуловић

Ментор:

Проф. др Милан Аксић

Коментор:

Проф. др Бранка Марковић