

УНИВЕРЗИТЕТ У КРАГУЈЕВЦУ
ФАКУЛТЕТ МЕДИЦИНСКИХ НАУКА
НАСТАВНО-НАУЧНОМ ВЕЋУ

УНИВЕРЗИТЕТ У КРАГУЈЕВЦУ
ФАКУЛТЕТ МЕДИЦИНСКИХ НАУКА
У КРАГУЈЕВЦУ

ПРИМЉЕНО:	20.08.2019.
Орг. јед.	
05	9266-1

**ОДЛУКА ВЕЋА ЗА МЕДИЦИНСКЕ НАУКЕ УНИВЕРЗИТЕТА У КРАГУЈЕВЦУ О
ФОРМИРАЊУ КОМИСИЈЕ ЗА ОЦЕНУ ЗАВРШЕНЕ
ДОКТОРСКЕ ДИСЕРТАЦИЈЕ**

На седници Већа за медицинске науке Универзитета у Крагујевцу, одржаној 14.06.2019. године, одлуком број IV-03-483/28 формирана је Комисија за оцену и одбрану завршене докторске дисертације под називом „Утицај хроничне примене цисплатине и диетил-естра лиганда (S,S)-етилендиамин-N,N-ди-2-(3-циклохексил) дипропионат дихидрохлорида (L3) и његових комплекса са Pt(IV) и Pd(II) на срчани мишић и коронарну циркулацију пацова” кандидата Јелене Шмигић, у следећем саставу:

1. Проф. др Гвозден Росић, редовни професор Факултета медицинских наука Универзитета у Крагујевцу за ужу научну област *Физиологија*, председник;
2. Проф. др Владимир Јаковљевић, редовни професор Факултета медицинских наука Универзитета у Крагујевцу за ужу научну област *Физиологија*, члан;
3. Проф. др Тибор Ј. Сабо, редовни професор Хемијског факултета Универзитета у Београду за ужу научну област *Опита и неорганска хемија*, члан.

Комисија је прегледала и проучила докторску дисертацију Јелене Шмигић и подноси Наставно-научном већу следећи

ИЗВЕШТАЈ

2.1. Значај и допринос докторске дисертације са становишта актуелног стања у одређеној научној области

Докторска дисертација кандидата Јелене Шмигић под називом „Утицај хроничне примене цисплатине и диетил-естра лиганда (S,S)–етилендиамин-N,N-ди-2-(3-циклохексил) дипропионат дихидрохлорида (L3) и његових комплекса са Pt(IV) и Pd(II) на срчани мишић и коронарну циркулацију пацова”, урађена под менторством проф. др Владимира Живковића, ванредног професора Факултета медицинских наука Универзитета у Крагујевцу, представља оригиналну научну студију која се бави истраживањем утицаја и поређењем ефеката примене цисплатине и диетил-естра лиганда (S,S)–етилендиамин-N,N-ди-2-(3-циклохексил) дипропионат дихидрохлорида (L3) и његових комплекса са Pt(IV) и Pd(II) на срчани мишић и коронарну циркулацију пацова методом по Лангендорфу.

Кардиотоксичност је једна од најчешћих и најозбиљнијих компликација примене хемотерапеутика у терапији карцинома. Историјски гледано, постоје два основна облика срчане слабости изазване хемотерапијом (CINF): 1) тип 1 или тип антрациклинског оштећења; и 2) тип 2 или тип оштећења трастузумабом. Наведена класификација произилази из разлика у механизму настанка и клиничким манифестацијама оштећења миокарда која настају деловањем претходно поменутих супстанци. Кардиоонкологија је ново развојно поље кардиологије, а бави се испитивањем кардиоваскуларних оштећења код пацијената са карциномом. Базични циљеви кардиоонкологије су превенција, дијагностика и лечење кардиотоксичности изазване хемотерапијом и/или радиотерапијом. Нешто специфичнији циљеви су дијагностика и лечење примарних и метастатских тумора срца и срчане амилоидозе.

Антиканцерски лекови се доводе у везу са великим бројем компликација у кардиоваскуларном систему, укључујући: артеријску и плућну хипертензију, суправентрикуларне и вентрикуларне аритмије, систолну и дијастолну дисфункцију и коронарну болест срца. Као могући узроци настајања наведених поремећаја индукованих хемотерапијом и радиотерапијом најчешће се наводе ендотелна дисфункција, тромбогенеза и оштећење миокарда. Цисплатина реагује са пуринским базама у ДНК молекулу, везује се ковалентним везама, што представља основу у развоју токсичних ефеката цисплатине. Премда се кардиотоксичност углавном не наводи као уобичајени

нежељени ефекат примене цисплатине, описано је више различитих поремаћаја срца везано за примену цисплатине попут: промена у ЕКГ запису, аритмија, миокардитиса, кардиомиопатије и конгестивне срчане слабости. Повећање концентрације лактат дехидрогеназе и креатин киназе у плазми током примене цисплатине је последица изласка ових ензима из кардиомиоцита услед липидне пероксидације ћелијске мембране кардиомиоцита изазваних поремећајима у редокс-равнотежи услед примене цисплатине. Најчешћа манифестација кардиотоксичности изазване цисплатином је артимија, и то тахикардија, а потом брадикардија, мада се описују и други поремећаји ритма попут вентрикулских аритмија, атријалне фибрилације, синусне брадикардије, блока гране или комплетног AV блока.

Резултати овог истраживања показују да у примењеној дози и дужини експозиције ниједно од испитиваних једињења није оштетило функцију изолованог срца пацова тј. нису остварили кардиодепресивни ефекат, а са друге стране нови лиганд (L3) али и његови комплекси са четворовалентном платином (K3) и двовалентним паладијумом (PdL3) имају респектабилан и обећавајући потенцијал ка мобилизацији антиоксидационих ензима.

2.2. Оцена да је урађена докторска дисертација резултат оригиналног научног рада кандидата у одговарајућој научној области

Претрагом доступне литературе прикупљене детаљним и систематским претраживањем биомедицинских база података „*Medline*“ и „*KoBSON*“, уз коришћење одговарајућих кључних речи: „*cisplatin*“, „*ligand*“, „*platinum(iv) complex*“, „*palladium(ii) complex*“, „*cardiodynamics*“ и „*oxidative stress*“ нису пронађене студије сличног дизајна и методолошког приступа. Сходно наведеном, Комисија констатује да докторска дисертација кандидата Јелене Шмигић под називом „Утицај хроничне примене цисплатине и диетил-естра лиганда (S,S)-етилендиамин-N,N-ди-2-(3-циклохексил) дипропионат дихидрохлорида (L3) и његових комплекса са Pt(IV) и Pd(II) на срчани мишић и коронарну циркулацију пацова“ представља резултат оригиналног научног рада.

2.3. Преглед остварених резултата рада кандидата у одређеној научној области

А. Лични подаци

Мр фарм Јелена Шмигић је рођена у Подгорици 1986. године. Основну школу и гимназију, природно математички смер је завршила у Подгорици. Фармацеутски факултет је завршила у Београду 2011. године. Радила је као сарадник у настави на модулу козметологија на Фармацеутском факултету у Подгорици од септембра 2011. године до фебруара 2012. године. Од јуна 2012. године до децембра 2015. године радила је у Агенцији за лекове и медицинска средства Србије. Уписала је докторске студије у октобру 2011. године на Фармацеутском факултету у Београду на модулу Фармацеутска технологија, а у новембру 2015. године се уписала на другу годину докторских академских студија на модулу Експериментална и примењена физиологија са спортском медицином на Факултету медицинских наука Универзитета у Крагујевцу.

Кандидат је аутор више оригиналних научних радова и први аутор у једном раду објављеном у часопису индексираном на *SCI* листи. Резултати рада наведени под редним бројем 1 саставни су део докторске дисертације, чиме је кандидат испунио услов за одбрану докторске дисертације.

У истраживању под називом „Chronic effects of platinum(IV) complex and its diamine ligand on rat heart function: comparison with cisplatin“ у коме је кандидат први аутор представљен је део резултата саме докторске дисертације. Циљ ове студије је био да се испитају и упореде кардиодимански параметри изолованих срца пацова којима је хронично апликована цисплатина, лиганд L3 и његов комплекс са Pt(IV). Резултати показују да, у поређењу са цисплатином као „златним стандардом“, нови комплекси и лиганди платине немају мање негативних ефеката на срце. Резултати овог истраживања су публиковани у часопису категорије **M23** (*Mol Cell Biochem.* 2019. doi: 10.1007/s11010-019-03533-8).

У студији под називом „The effects of chronic administration of cisplatin on oxidative stress in the isolated rat heart“ циљ био је да се упореди настајање и ослобађање параметара оксидационог стреса код изолованог срца пацова између група третираних цисплатином и физиолошким раствором. Резултати овог истраживања су публиковани у часопису категорије **M51** (*Ser J Exp Clin Res.* 2018;19(1):11-16).

У истраживању под називом „The effects of direct red bull administration to isolated hearts of treated and untreated rats who regularly did or did not consume energy drink: focus on cardiodynamics and oxidative stress“ анализиран је ефекат директне примене енергетских пића на кардиодиманске параметре пацова и оксидациони стрес пацова који су били изложени енергетским пићима дуже време. Резултати овог истраживања су публиковани у часопису категорије **M51** (Ser J Exp Clin Res. 2019; doi: 10.2478/sjecr-2019-0022).

Б. Списак објављених радова (прописани минимални услов за одбрану докторске дисертације)

1. **Smigic J**, Sabo T, Vranic A, Zivkovic V, Srejovic I, Turnic TN, Milosavljevic I, Poljarevic J, Krivokapic M, Bolevich S, Jakovljevic VL. Chronic effects of platinum(IV) complex and its diamine ligand on rat heart function: comparison with cisplatin. Mol Cell Biochem. 2019. doi: 10.1007/s11010-019-03533-8. **M23**
2. Smigic J, Stojic I, Zivkovic V, Srejovic I, Nikolic T, Jeremic J, Sabo T, Jakovljevic V. The effects of chronic administration of cisplatin on oxidative stress in the isolated rat heart. Ser J Exp Clin Res. 2018;19(1):11-16. **M51**
3. Pusica I, Srejovic I, Bradic J, **Smigic J**, Bolevich S, Bolevich S, Jakovljevic V, Djordjevic D. The effects of direct red bull administration to isolated hearts of treated and untreated rats who regularly did or did not consume energy drink: focus on cardiodynamics and oxidative stress. Ser J Exp Clin Res. 2019; doi: 10.2478/sjecr-2019-0022. **M51**

2.4. Оцена о испуњености обима и квалитета у односу на пријављену тему

Сprovedено истраживање у потпуности је усклађено са пријављеном темом докторске дисертације. Циљеви истраживања и примењена методологија идентични су са одобреним у пријави тезе. Докторска дисертација кандидата Јелене Шмигић садржи следећа поглавља: Увод, Циљеви и хипотезе, Материјал и методе, Резултати, Дискусија, Закључци и Литература. Написана је на 135 страна и има 28 графикон, 14 табела и 1 слику. Поглавље Литература садржи 214 цитираних библиографских јединица из иностраних и домаћих стручних публикација.

У уводном делу и теоретском разматрању, кандидат је на јасан и прецизан начин и цитирајући релевантну литературу изложио актуелна сазнања о кардиотоксичности

изазване применом хемотерапеутика, кардиоваскуларним компликацијама изазваним применом хемотерапеутика, цисплатини и развоју кардиотоксичности.

Циљеви и хипотезе истраживања јасно су изложени и дефинисани у складу са одобреним приликом пријаве тезе. Кандидат је у свом раду намеравао да анализира ефеката хроничне примене цисплатине (CDDP) и диетил-естра лиганда ((S,S)етилендиамин-N,N-ди-2-(3-циклохексил)дипропаноат-дихидрохлорида ((S,S)-Et2-eddch) и његових комплекса са Pt(IV) и Pd(II) на срчани мишић и коронарну циркулацију изолованог срца пацова, као и могућих механизма добијених ефеката. У складу са наведеним општим циљем формулисани су специфични циљеви: испитивање улоге различитих параметара оксидационог стреса: азот моноксид (NO мереног у облику нитрита (NO_2^-)), супероксид анјон радикала (O_2^-), индекса липидне пероксидације (мерен као TBARS) и водоник пероксида (H_2O_2) у насталим променама кардиодинамских параметара срчаног рада и коронарне циркулације, као и утврђивање хистолошке промене настале услед хроничне примене цисплатине (CDDP) и диетил-естра лиганда ((S,S)етилендиамин-N,N-ди-2-(3-циклохексил)дипропаноат-дихидрохлорида ((S,S)-Et2-eddch) и његових комплекса са Pt(IV) и Pd(II) на срчаном мишићу.

Материјал и методологија рада су прецизно формулисани и подударaju се са одобреним приликом пријаве тезе. Истраживање је дизајнирано као експериментална студија на пацовима *Wistar albino* соја. Животиње су биле подељене у шест група, од којих су четири (4) експерименталне и две (2) контролне групе. Животиње у експерименталним групама су током четири недеље добијале интраперитонеално по једну дозу (4 mg/kg телесне масе) испитиваног једињења, док су животиње у контролним групама једном недељно добијале једнаку запремину физиолошког раствора или диметил сулфооксида (DMSO). Након завршеног хроничног третмана испитиваним једињењима за испитивање функције миокарда и коронарне циркулације коришћен је *Langendorff*-ов модел изолованог срца пацова. У узоцима плазме и коронарног венског ефлуента су одређивани нивои прооксидационих молекула (TBARS, NO_2^- , O_2^- , H_2O_2) спектрофотометријским методама. Такође, из прикупљених узорак крви су се центрифугирањем у талогу издвајали еритроцити, испирањем талога употребом охлађеног физиолошког раствора добијао се лизат еритроцита у којем су одређивани нивои параметара антиоксидационе заштите.

Резултати истраживања су систематично приказани табелама (укупно 12) и графиконима (укупно 28). Резултати овог истраживања показују да у примењеној дози и дужини експозиције ниједно од испитиваних једињења није оштетило функцију изолованог срца пацова тј. нису остварили кардиодепресивни ефекат, а са друге стране нови лиганд (L3) али и његови комплекси са четворовалентном платином (K3) и двовалентним паладијумом (PdL3) имају респектабилан и обећавајући потенцијал ка мобилизацији антиоксидационих ензима.

У поглављу „Дискусија“ детаљно су објашњени резултати истраживања, тако што су образложене промене у вредностима испитиваних биомаркера оксидационог стреса и кардиодиманских параметара у различитим експерименталним групама. Добијени резултати упоређени су и са литературним подацима других аутора из ове области.

На основу претходно изнетих чињеница, Комисија сматра да завршена докторска дисертација кандидата Јелене Шмигић под називом „Утицај хроничне примене цисплатине и диетил-естра лиганда (S,S)-етилендиамин-N,N-ди-2-(3-циклохексил) дипропионат дихидрохлорида (L3) и његових комплекса са Pt(IV) и Pd(II) на срчани мишић и коронарну циркулацију пацова”, по обиму и квалитету израде у потпуности одговара пријављеној теми дисертације.

2.5. Научни резултати докторске дисертације

1. За разлику од цисплатине, лиганд самостално (L3) и у оквиру Pt(IV) комплекса не ремети метаболичке процесе у организму тј. не омета нормалан прираст телесне тежине пацова, док у комбинацији са паладијумом ови нежељени ефекти нису избегнути. Ови резултати могу бити од значаја с обзиром да показују да само одређена комбинација металних јона и лиганда обезбеђује сигурну употребу ових цитостатских агенаса са поменутог аспекта.
2. Након сумације свих налаза који се односе на биохемијске маркере за процену функције јетре, бубрега и липидног статуса можемо закључити да сви испитивани агенси који су били администрирани у примењеној дози и дужини експозиције нису били повезани са биохемијским променама функције јетре и бубрега односно липидног метаболизма и са овог становишта могу бити безбедни за употребу.

3. Генерално посматрано, хронична апликација цисплатине, L3 лиганда и K3 и PdL3 комплекса није била повезана са променама кардиодинамских варијабли током ауторегулаторног ранга односно није пореметила функцију и перфузију срца у периоду ауторегулације. Ови налази показују да у примењеној дози и дужини експозиције ниједно од испитиваних једињења није оштетило функцију изолованог срца пацова тј. нису остварили кардиодепресивни ефекат.
4. Наши резултати су показали да је у изолованом срцу веће ослобађање најпотентнијих мерених реактивних кисеоничних врста - супероксид анион радикала (O_2^-) и водоник пероксида (H_2O_2) било повезано са хроничном применом цисплатине, лиганда (L3) и платинским комплексом (K3), док су у случају паладијумског комплекса (PdL3) вредности поменутих биомаркера биле најниже.
5. Најниже вредности већине системских про-оксиданаса су биле уочене у групи којој је администриран двовалентни паладијумски комплекс (PdL3), што је било запажено и приликом анализе срчаних про-оксидационих параметара. У поређењу са цисплатином ниједно од поменутих новосинтетисаних једињења није показало мањи про-оксидациони потенцијал.
6. Третман новосинтетисаним једињењима (L3, K3 и PdL3) је био повезан са (несигнификантно) већим вредностима супероксид дизмутазе и редукованог глутатиона док је активност каталазе била изразито већа након апликације лиганда (L3) у компарацији са цисплатином. На овај начин изгледа да нова испитивана једињења могу бити ефикаснија у стимулацији антиоксидационе ензимске заштите у односу на цисплатину.
7. Ови резултати сугеришу да пре свега нови лиганд (L3) али и његови комплекси са четворовалентном платином (K3) и двовалентним паладијумом (PdL3) имају респектабилан и обећавајући потенцијал ка мобилизацији антиоксидационих ензима. Узевши у обзир овај њихов ефекат чини се да би са овог аспекта требало да завреде већу пажњу будућих истраживања.

2.6. Примењивост и корисност резултата у теорији и пракси

Добијени резултати истраживања дају оригиналан и веома важан допринос разумевању развоја кардиотоксичности изазване хемотерапеутицима, као и испитивању кардиотоксичног потенцијала потенцијално нових антиканцерских лекова.

2.7. Начин презентирања резултата научној јавности

Резултати ове студије публиковани су као оригинално истраживање у часопису индексираном на SCI листи (категорија M23).

1. **Smigic J**, Sabo T, Vranic A, Zivkovic V, Srejovic I, Turnic TN, Milosavljevic I, Poljarevic J, Krivokapic M, Bolevich S, Jakovljevic VL. Chronic effects of platinum(IV) complex and its diamine ligand on rat heart function: comparison with cisplatin. Mol Cell Biochem. 2019. doi: 10.1007/s11010-019-03533-8. **M23**

ЗАКЉУЧАК

Комисија за оцену и одбрану завршене докторске дисертације кандидата Јелене Шмигић под називом „Утицај хроничне примене цисплатине и диетил-естра лиганда (S,S)-етилендиамин-N,N-ди-2-(3-циклохексил) дипропионат дихидрохлорида (L3) и његових комплекса са Pt(IV) и Pd(II) на срчани мишић и коронарну циркулацију пацова” сматра да је истраживање у оквиру тезе базирано на актуелним сазнањима и валидној методологији и да је адекватно постављено и спроведено.

Комисија сматра да докторска дисертација кандидата Јелене Шмигић, под менторством ванредног професора Владимира Живковића, представља оригинални научни допринос у разумевању развоја кардиотоксичности услед примене хемотерапеутика.

Комисија са задовољством предлаже предлаже Наставно-научном већу Факултета медицинских наука Универзитета у Крагујевцу да докторска дисертација под називом „Утицај хроничне примене цисплатине и диетил-естра лиганда (S,S)-етилендиамин-N,N-ди-2-(3-циклохексил) дипропионат дихидрохлорида (L3) и његових комплекса са Pt(IV) и Pd(II) на срчани мишић и коронарну циркулацију пацова“, кандидата Јелене Шмигић буде позитивно оцењена и одобрена за јавну одбрану.

ЧЛАНОВИ КОМИСИЈЕ:

Проф. др Гвозден Росић, редовни професор Факултета медицинских наука
Универзитета у Крагујевцу за ужу научну област *Физиологија*, председник

Проф. др Владимир Јаковљевић, редовни професор Факултета медицинских наука
Универзитета у Крагујевцу за ужу научну област *Физиологија*, члан

Проф. др Тибор Ј. Сабо, редовни професор Хемијског факултета Универзитета у
Београду за ужу научну област *Општа и неорганска хемија*, члан

У Крагујевцу, 24.06.2019. године