

**НАСТАВНО-НАУЧНОМ ВЕЋУ БИОЛОШКОГ ФАКУЛТЕТА  
УНИВЕРЗИТЕТА У БЕОГРАДУ**

На V редовној седници Наставно-научног већа Биолошког факултета Универзитета у Београду, одржаној **10.03.2017.** године, прихваћен је извештај ментора др Јасне Шапоњић, научног саветника Института за биолошка истраживања „Синиша Станковић“ Универзитета у Београду и др Павла Анђуса, редовног професора Биолошког факултета Универзитета у Београду о урађеној докторској дисертацији **Јелене М. Ћирић**, истраживача сарадника Института за биолошка истраживања „Синиша Станковић“ под насловом:

**„Рани електрофизиолошки знаци поремећаја спавања и моторне контроле у старењу пацова са неуродегенерацијом холинергичких неурона“**

и одређена је Комисија за преглед и оцену докторске дисертације у саставу:

1. Др Јасна Шапоњић, научни саветник, Институт за биолошка истраживања „Синиша Станковић“, Универзитет у Београду,
2. Др Павле Анђус, редовни професор, Биолошки факултет, Универзитет у Београду,
3. Др Тихомир Илић, редовни професор, Медицински факултет ВМА, Универзитет одбране у Београду,

Комисија је прегледала урађену докторску дисертацију кандидаткиње и Наставно научног већа подноси следећи

## ИЗВЕШТАЈ

### ОПШТИ ПОДАЦИ О ДОКТОРСКОЈ ДИСЕРТАЦИЈИ

Докторска дисертација **Јелене М. Тирић**, истраживача сарадника Института за биолошка истраживања „Синиша Станковић“ под насловом:

**„Рани електрофизиолошки знаци поремећаја спавања и моторне контроле у старењу пацова са неуродегенерацијом холинергичких неурона“**,

написана је на 140 страна текста и садржи 36 слика и 3 табеле. Текст ове докторске дисертације се састоји од 7 поглавља и то: Увод (31 страна), Циљеви истраживања (3 стране), Материјал и методе (24 стране), Резултати (41 страна), Дискусија (17 страна), Закључци (5 страна) и Литература (19 страна).

Експериментални део ове докторске дисертације је урађен на Одељењу за неуробиологију, Института за биолошка истраживања „Синиша Станковић“, у оквиру пројекта основних истраживања (ОИ 173022, 2011-2017) под називом „Неуробиологија спавања у старењу и болести – електроенцефалографски маркери и моделирање у процени поремећаја“, финансираног од стране Министарства просвете, науке и технолошког развоја Републике Србије, под непосредним руководством др Јасне Шапоњић, научног саветника.

На основу резултата претходних истраживања, везаних за различите функционалне улоге два главна система холинергичке инервације великог мозга пацова на регулацију спавања, постављена је хипотеза за истраживања у овој докторској дисертацији.

**Основна хипотеза** ове докторске дисертације била је **да је могуће на електрофизиолошком нивоу детектовати рани почетак поремећаја спавања и моторне контроле у току спавања, који је условљен процесом старења у експерименталним моделима функционално различитих холинопатија (холинергичких неуропатологија) најчешћих болести старења у људи, у односу на физиолошко старење.**

**Главни предмет** истраживања ове докторске дисертације је био **истраживање утицаја старења на спавање и моторну контролу дорзалне вратне мускулатуре у току спавања**, како у физиолошком старењу, тако и у старењу у експерименталним моделима холинопатија најчешћих болести старења у људи, као што су Алцхајмерова болест (АБ) и Паркинсонова болест (ПБ).

Наиме, у одраслих пацова, селективно оштећење једра *nucleus basalis* (НБ), као главног извора холинергичке инервације коре великог мозга, је представљало експериментални модел тешког облика холинопатије Алцхајмерове болести (АБ), док је селективно билатерално оштећење једра *nucleus pedunculopontinus tegmentalis* (ППТ), као главног извора таламо-кортикалне холинергичке инервације великог мозга, представљало експериментални модел тешког облика холинопатије Паркинсонове болести (ПБ).

Рани знаци поремећаја спавања, који су изазвани било физиолошким старењем, било старењем пацова са неуродегенерацијом функционално различитих холинергичких неурона, су праћени путем анализе промена у: архитектури спавања, динамици епизода три основне фазе спавања (број и трајање епизода будности, Не-РЕМ и РЕМ фаза спавања), ЕЕГ микроструктури (релативне амплитуде свих конвенционалних ЕЕГ фреквентних опсега), динамици вретена спавања у току РЕМ фазе спавања (фреквенција појављивања, трајање и унутрашња фреквенција вретена спавања) и моторној контроли у току сваке фазе спавања (промене у пропацијама осцилација од коре великог мозга до мишића дорзалне вратне мускулатуре, мерене кортико-мускуларном кохеренцијом). Сви ови поремећаји спавања и моторне контроле у току спавања, који су условљени процесом физиолошког или патолошког старења, су праћени у периоду од 3 до 5,5 месеци старости пацова.

**Циљ ове докторске дисертације је био да се пронађу различити и најранији електрофизиолошки знаци поремећаја спавања, као и индикатори измењене моторне контроле у физиолошком старењу и старењу**

у функционално различитим холинергичким неуропатологијама, са даљом могућношћу њихове примене у раној дијагностици, превенцији и евентуалном праћењу терапије пацијената са ризиком развоја АБ и ПБ.

## АНАЛИЗА ДОКТОРСКЕ ДИСЕРТАЦИЈЕ

У Уводу своје докторске дисертације **Јелена Ћирић** је дала детаљан приказ савремених знања о физиолошком старењу мозга, о посебном значају централног холинергичког система у процесима старења, о значају поремећаја холинергичке инервације великог мозга у поремећајима спавања у најчешћим неуродегенеративним болестима старости (АБ и ПБ), као и о посебном значају истраживања поремећаја спавања, као раних знакова (биомаркера) настанка ових болести, у експерименталним моделима. Такође, дат је детаљан приказ значаја истраживања спавања као понашања, структурне и неурохемијске основе регулације свих основних фаза у току спавања, електрофизиолошких карактеристика основних фаза спавања, функције спавања као понашања, промена спавања у току развоја и старења, као и поремећаја понашања у току РЕМ фазе спавања.

Посебан осврт у Уводу је дат на организацију нервно-мишићног система, као и на регулацију мишићног тонуса и локомоторног ритма, као и на улогу ППТ једра како у регулацији спавања, тако и у регулацији мишићног тонуса, положаја тела, одржавању равнотеже као и у генерисњу локомоторног ритма, и посебно у моторној контроли у току спавања

У поглављу **Циљеви**, на бази основне хипотезе ове докторске дисертације, постављен је основни циљ истраживања: да се пронађу најранији електрофизиолошки знаци поремећаја спавања, као и знаци измењене моторне контроле у физиолошком старењу, као и током старења у функционално различитим холинергичким неуропатологијама, како би се расветлили патофизиолошки процеси код АБ и ПБ пацијената, и евентуално омогућила њихова примена у раној дијагностици, превенцији и праћењу успешности терапије.

У складу са основним циљем истраживања ове докторске дисертације дефинисана су 2 експериментална задатка:

1) испитати утицај физиолошког старења на архитектуру спавања, динамику епизода три основне фазе спавања, ЕЕГ микроструктуру и моторну контролу у све три основне фазе спавања (будност, Не-РЕМ и РЕМ спавање), а у циљу дефинисања раних електрофизиолошких маркера поремећаја спавања;

2) испитати утицај старења код билатералних лезија НБ и ППТ једра на архитектуру спавања, динамику епизода три основне фазе спавања, ЕЕГ микроструктуру и моторну контролу у току три основне фазе спавања (будност, Не-РЕМ и РЕМ спавање) у циљу дефинисања раних електрофизиолошких маркера поремећаја спавања у току неуродегенерације функционално различитих холинергичких неурона.

У оквиру поглавља **Материјал и методе** детаљно је изложен и илустрован експериментални протокол, експерименталне групе, оперативна процедура, процедура регистравања спавања, процедура припреме мозданог ткива за хистохемијску идентификацију и квантификацију дефицита функционално различитих холинергичких неурона, након билатералних ексцитотоксичних НБ или ППТ лезија, сви детаљи везани за анализу спавања, ЕЕГ анализу основних фаза у току спавања, анализу вретена спавања, као и сви детаљи статистичке обраде експерименталних података.

У поглављу **Резултати** је показано да физиолошко старење доводи до промена спонтаног спавања које се топографски различито исказује у сензомоторној кори у односу на моторну кору великог мозга пацова. Показано је да прве промене у архитектури спавања изазване физиолошким старењем почињу у 4,5 месеци старости пацова, и то само у сензомоторној кори: док се трајање Не-РЕМ фазе скраћује (доминантно због скраћења средњег трајања Не-РЕМ епизода, нарочито смањење броја дугих Не-Рем епизода), трајање РЕМ фазе се продужава (доминантно због повећања средњег броја РЕМ епизода, нарочито повећања броја кратких РЕМ епизода). Такође, резултати показују да

физиолошко старење доводи до измена у моторној контроли дорзалних вратних мишића за време REM фазе спавања, већ од 3,5 месеци старости пацова: физиолошко старење проузрокује истовремено повећање пропагације EEG делта и бета осцилација из моторне коре уз истовремено смањење пропагације EEG делта и бета осцилација из сензомоторне коре до дорзалних вратних мишића. Ови резултати су указали да постојање двоструке и инверзне моторне контроле дорзалних вратних мишића у REM фази спавања могу представљати хомеостатски механизам за одржавање здраве моторне контроле у REM фази спавања.

Поред тога, резултати ове докторске дисертације су показали да су будност и REM фаза спавања најсензитивније на промене моторне контроле у току физиолошког старења.

Са друге стране, показано је да старење за време неуродегенерације холинергичких неурона доводи до топографских измена у EEG микроструктури REM фазе спавања. Већ од 3,5 месеци старости пацова, најранији знак старења у пацова са обострано ледираним НБ једром је било конзистентно смањење делта EEG релативне амплитуде у сензомоторној кори, док је најранији знак старења у пацова са обострано ледираним ППТ једром било конзистентно повећање сигма EEG релативне амплитуде у моторној кори.

Такође, показано је да старење у пацова са неуродегенерацијом холинергичких неурона условљава топографске измене у моторној контроли вратних мишића већ од 4,5 месеци старости пацова, које су се исказале као: повећање пропагације EEG делта осцилација из моторне коре за време будности и истовремено повећање пропагације делта, тета, сигма и бета осцилација у Не-REM и REM фази спавања, како у пацова са обостраном лезијом НБ једра, тако и у пацова са обостраном лезијом ППТ једра.

Наиме, поремећај моторне контроле дорзалних вратних мишића у току спонтаног спавања, изазван старењем пацова са ППТ лезијом, се манифестовао и као повећање пропагације EEG делта осцилација из сензомоторне коре за време будности и истовремено повећање пропагације делта, тета и сигма осцилација за време Не-REM фазе спавања. С друге стране, старењем изазване

измене у контроли дорзалних вратних мишића у току спонтаног спавања из сензомоторне коре у пацова са обострано ледираним НБ једром су се исказале као смањење пропагације ЕЕГ делта осцилација за време Не-РЕМ фазе и истовремено повећање пропагација тета и гама осцилација за време РЕМ фазе спавања.

У резултатима ове докторске дисертације је показана по први пут и појава вретена спавања за време РЕМ фазе спавања у моторној кори пацова са обострано ледираним ППТ једром, што представља потпуно нов и патолошки РЕМ феномен. Ова вретена спавања су разнолика по облику, фреквентнија, продуженог трајања, и мање унутрашње фреквенције (спорија) у односу на контролне пацове. Овај нов, и патолошки РЕМ феномен који се јавља већ од 3,5 месеци старости пацова, објашњава повећање сигма ЕЕГ релативне амплитуде у моторној кори и представља најранији електрофизиолошки маркер почетка старења код пацова са обострано ледираним ППТ једром.

Резултати ове докторске дисертације по први пут показују ране електрофизиолошке знаке старења у експерименталним моделима АБ и ПБ холинопатија.

У **Дискусији** добијених резултата Јелена Ћирић је показала познавање литературе везане за испитивану проблематику и указала на све значајне и нове доказе ове докторске дисертације са критичким освртом на резултате других најновијих истраживања у овој научној области.

У поглављу **Закључци** јасно су сумирани резултати добијени у овом раду који указују на значај свих нових методолошких приступа који су омогућили добијање резултата који представљају новине и дају веома важан допринос у истраживањима спавања, посебно моторне контроле у току спавања.

У поглављу **Литература** наведено је 162 релевантне библиографске јединице, што указује да је кандидаткиња темељно и студиозно приступила изучавању проблематике докторске дисертације.

## БИБЛИОГРАФИЈА

### Радови и конгресна саопштења из докторске дисертације:

#### Б1. Радови у часописима међународног значаја

1. **Ciric J., Lazic K., Petrovic J., Kalauzi A., Saponjic J.** (2015). Aging induced cortical drive alterations during sleep in rats. *Mechanisms of Ageing and Development*, 146, 12-22. **M21**
2. **Ciric J., Lazic K., Petrovic J., Kalauzi A., Saponjic J.** (2016). Age-related disorders of sleep and motor control in the rat models of functionally distinct cholinergic neuropathology. *Behavioural Brain Research*, 301, 273-286. **M22**

#### Б2. Поглавље у међународној монографији

1. Saponjic J., Petrovic J., **Ciric J., Lazic K.** Disorders of sleep and motor control during the impaired cholinergic innervation in rat – relevance to Parkinson’s disease. In: Dorszewska J, Kozubski W, editors. *Challenges in Parkinson’s Disease*. InTech Rijeka, Croatia; 2016, Ch 7, pp. 135-153. **M12**

#### Б3. Конгресна саопштења на скуповима међународног значаја

1. **Ciric J., Petrovic J., Lazic K., Kalauzi A., Saponjic J.** Aging induced sleep and sleep-states related EEG changes in rat. 8<sup>th</sup> FENS Forum, 2012 July 14-18; Barcelona, Spain, Abstr. No. 746. **M34**

#### Б4. Конгресна саопштења на скуповима домаћег значаја

1. **Ćirić J., Spasić S., Kesić S., Petrović J., Kalauzi A., Šaponjić J.** EEG ritmovi budnosti i spavanja u fiziološkom starenju i starenju sa holinergičkom neurodegeneracijom, V Kongres Društva za neuronauke Srbije, 29.09-2.10.2011, Kopaonik, Srbija, str. 272. **M64**
2. **Ćirić J., Petrović J., Lazić K., Kalauzi A., Šaponjić J.** Cortico-muscular coherence changes across sleep states during healthy and pathological aging. 3rd Congress of physiological sciences of Serbia with international participation, 29.10.-31.10.2014., Beograd, Srbija, str. 102. **M64**

### Радови и конгресна саопштења из уже научне области:

#### Б1. Радови у часописима међународног значаја

1. Kalauzi A., Spasic S., Petrovic J., **Ciric J., Saponjic, J.** (2012). Cortico-pontine theta carrier frequency phase shift across sleep/wake states following monoaminergic lesion in rat. *General Physiology and Biophysics*, 31, 163-171. **M23**

2. Saponjic J., Petrovic J., Kalauzi A., **Ciric J.**, Lazic K., Radulovacki M., Carley DW. (2013). Sleep-state related EEG amplitude distribution in the rat model of cortical cholinergic innervation disorder. *Sleep and Biological Rhythms*, 11, 105-115. **M23**
3. Petrovic J., **Ciric J.**, Lazic K., Kalauzi A., Saponjic J. (2013). Lesion of the pedunculopontine tegmental nucleus in rat augments cortical activation and disturbs sleep/wake state transitions structure. *Experimental Neurology*, 247, 562-571. **M21**
4. Petrovic J., Lazic K., **Ciric J.**, Kalauzi A., Saponjic J. (2013). Topography of the sleep/wake states related EEG microstructure differentiates the functionally distinct cholinergic innervation disorders in rat. *Behavioural Brain Research*, 256, 108-118. **M21**
5. Lazic K., Petrovic J., **Ciric J.**, Kalauzi A., Saponjic J. (2015). Impact of anesthetic regimen on the respiratory pattern, EEG microstructure and sleep in the rat model of cholinergic Parkinson's disease neuropathology. *Neuroscience*, 304, 1-13. **M22**
6. Lazic K., Petrovic J., **Ciric J.**, Kalauzi A., Saponjic J. (2017). REM sleep disorder following general anesthesia in rats. *Physiology & Behavior*, 168, 41-54. **M22**

### **Б3 Конгресна саопштења на скуповима међународног значаја**

1. Saponjic J., Petrovic J., **Ciric J.**, Lazic K., Kalauzi A. Sleep and EEG rhythms in the rat cortical cholinergic innervation disorder. 8<sup>th</sup> FENS Forum, 2012 July 14-18; Barcelona, Spain, Abstr. No. 717. **M34**
2. Petrovic J., **Ciric J.**, Lazic K., Kalauzi A., Saponjic J. Topography of sleep and EEG in the rat model of nucleus basalis lesion. 8<sup>th</sup> FENS Forum, 2012 July 14-18; Barcelona, Spain, Abstr. No. 773. **M34**
3. Kalauzi A., Petrovic J., **Ciric J.**, Lazic K., Saponjic J. Effect of different brain cholinergic lesions on theta carrier frequency phase shift topography in rat. 8<sup>th</sup> FENS Forum, 2012 July 14-18; Barcelona, Spain, Abstr. No. 741. **M34**
4. Lazic K., Petrovic J., **Ciric J.**, Kalauzi A., Saponjic J. Effect of pedunculopontine tegmental nucleus lesion on sleep-state related EEG. 8<sup>th</sup> FENS Forum, 2012 July 14-18; Barcelona, Spain, Abstr. No. 766. **M34**
5. Petrovic J., Lazic K., **Ciric J.**, Kalauzi A., Saponjic J. EEG microstructure differentiates the functionally distinct cholinergic innervation disorders in rat. FENS Featured Regional Meeting, 2013 September 11-14; Prague, p. 336. **M34**
6. Saponjic J., **Ciric J.**, Lazic K., Petrovic J., Kalauzi A. Ageing alters the EEG microstructure and motor cortical drive across sleep in the rat models of impaired brain cholinergic control. 7<sup>th</sup> World Sleep Congress, 2015 October 31 – November 3, Istanbul, Turkey, Abstr. No. 94. **M34**
7. Petrovic J., Lazic K., **Ciric J.**, Kalauzi A., Saponjic J. Sleep episodes dynamics in the rat model of Parkinson's disease cholinergic pathology. 7<sup>th</sup> World Sleep Congress, 2015 October 31 – November 3, Istanbul, Turkey, Abstr. No. 105. **M34**

#### **Б4. Конгресна саопштења на скуповима домаћег значаја**

1. Petrović J., Kesić S., **Ćirić J.**, Spasić S., Kalauzi A., Šaponjić J. Topografska analiza arhitekture spavanja u pacovskom modelu nucleus basalis lezije, V Kongres Društva za neuronauke Srbije, 29.09-2.10.2011., Kopaonik, Srbija, str. 273. **M64**
2. Spasić S., Kalauzi A., Kesić S., **Ćirić J.**, Petrović J., Šaponjić J. Funkcionalna veza amplituda visokih frekvencija i Higučijeve fraktalne dimenzije EEG-a modelirana pomoću surogat podataka u različitim generalnim anestezijama pacova. V Kongres Društva za neuronauke Srbije, Kopaonik, Srbija, 29.09-2.10.2011, str. 283. **M64**
3. Kesić S., Kalauzi A., Spasić S., Petrović J., **Ćirić J.**, Šaponjić J. Spavanje i EEG ritmovi u poremećaju holinergičke inervacije kore velikog mozga pacova, V Kongres Društva za neuronauke Srbije, 29.09-2.10.2011., Kopaonik, Srbija, str. 284. **M64**
4. Lazić K., Kalauzi A., Petrović J., **Ćirić J.**, Šaponjić J. Respiratory pattern and EEG microstructure disorders at surgical level of ketamin anesthesia during pontine cholinergic neuronal loss in rat. 3rd Congress of physiological sciences of Serbia with international participation, 29.10.-31.10.2014., Beograd, Srbija, str. 132. **M64**
5. Petrović J., Lazić K., **Ćirić J.**, Kalauzi A., Šaponjić J. Two distinct REM states in the rat model of impaired cholinergic thalamo-cortical innervation. 3rd Congress of physiological sciences of Serbia with international participation, 29.10.-31.10.2014., Beograd, Srbija, str. 158. **M64**

#### **МИШЉЕЊЕ И ПРЕДЛОГ КОМИСИЈЕ**

Комисија за преглед и оцену докторске дисертације Јелене М. Ђирић под насловом „**Рани електрофизиолошки знаци поремећаја спавања и моторне контроле у старењу пацова са неуродегенерацијом холинергичких неурона**“, сматра да је истраживање у оквиру дисертације засновано на савременим сазнањима, новој методологији и да је адекватно и прецизно спроведено. Добијени резултати су прегледни, јасни, веома добро и критички продискутовани и представљају значајан допринос у истраживању спавања као понашања.

Комисија констатује да ова докторска дисертација представља оригинални научни допринос, да је заснована на савременим научним сазнањима са фундаменталним теоријским значајем у науци и широким могућностима примене у клиници.

Резултати истраживања ове докторске дисертације публиковани су у 2 рада у међународним часописима од високог значаја, у једном поглављу у међународној монографији, и презентовани су у форми саопштења на 1 међународном и 2 домаћа научна скупа.

Комисија предлаже Наставно-научном већу Биолошког факултета Универзитета у Београду да прихвати Извештај о урађеној докторској дисертацији Јелене Тирић под насловом: **„Рани електрофизиолошки знаци поремећаја спавања и моторне контроле у старењу пацова са неуродегенерацијом холинергичких неурона“**, и овај рад узме као основ за јавну одбрану и стицање звања доктора биолошких наука.

У Београду, 30.03. 2017. Год

#### КОМИСИЈА:

---

Др Јасна Шапоњић, научни саветник,  
Институт за биолошка истраживања  
„Синиша Станковић“, Универзитет у  
Београду

---

Др Павле Анђус, редовни професор,  
Биолошки факултет, Универзитет у  
Београду

---

Др Тихомир Илић, редовни професор,  
Медицински факултет ВМА,  
Универзитет одбране у Београду