



**ИЗВЈЕШТАЈ**  
*о оцјени урађене докторске дисертације*

**1. ПОДАЦИ О КОМИСИЈИ**

Орган који је именовано комисију: Научно-наставно вијеће Медицинског факултета

Датум именовања комисије: 10.09.2024. године

Број одлуке: 18/3.692/24

Чланови комисије:

1. Др Миков Момир	Редовни професор	Фармакологија, токсикологија и клиничка фармакологија
Презиме и име	Звање	Научно поље и ужа научна област
Медицински факултет Универзитета у Новом Саду	Предсједник	
Установа у којој је запослен-а	Функција у комисији	
2. Др Стојиљковић Милош	Редовни професор	Фармакологија, токсикологија и клиничка фармакологија
Презиме и име	Звање	Научно поље и ужа научна област
Медицински факултет Универзитета у Бањој Луци	Члан	
Установа у којој је запослен-а	Функција у комисији	
3. Др Дарко Голић	Редовни професор	Патолошка физиологија
Презиме и име	Звање	Научно поље и ужа научна област
Медицински факултет Универзитета у Бањој Луци	Члан	
Установа у којој је запослен-а	Функција у комисији	
4. Др Дарко Јовић	Ванредни професор	Хирургија
Медицински факултет Универзитета у Бањој Луци	Резервни члан	
Установа у којој је запослен-а	Функција у комисији	

## 2. ПОДАЦИ О СТУДЕНТУ

Име, име једног родитеља, презиме: Далибор, Милорад, Михајловић

Датум рођења: 16.9.1973. године

Мјесто и држава рођења: Бања Лука, Република Српска, Босна и Херцеговина

### 2.1. Студије првог циклуса или основне студије или интегрисане студије

Година уписа:	1992/1993	Година завршетка:	2004.	Просјечна оцјена током студија:	8,43
---------------	-----------	-------------------	-------	---------------------------------	------

Универзитет: Универзитет у Бањој Луци

Факултет/и: Медицински факултет

Студијски програм: Медицина

Стечено звање: Доктор медицине

### 2.2. Студије другог циклуса или магистарске студије

Година уписа:	2005/2006	Година завршетка:	2015	Просјечна оцјена током студија:	9.30
---------------	-----------	-------------------	------	---------------------------------	------

Универзитет: Универзитет у Бањој Луци

Факултет/и: Медицински факултет

Студијски програм: Општи

Назив завршног рада другог циклуса или магистарске тезе, датум одбране: „Учесталост и значај раног откривања инфаркта миокарда без СТ елевације на прехоспиталном нивоу”, одбрана тезе 23.04.2015. године.

Ужа научна област завршног рада другог циклуса или магистарске тезе: Кардиологија

Стечено звање: Магистар медицинских наука

### 2.3. Студије трећег циклуса

Година уписа:	2017/2018	Број ECTS остварених до сада:	120	Просјечна оцјена током студија:	9,60
---------------	-----------	-------------------------------	-----	---------------------------------	------

Факултет/и: Медицински факултет

Студијски програм: Биомедицинске науке

### 2.4. Приказ научних и стручних радова студента

РБ	Подаци о референци	Категорија <sup>1</sup>
1.	Mihajlović D, Đukanović Đ, Gajić Bojić M, Jovičić S, Mandić-	

<sup>1</sup> Категорија се односи на оне часописе и научне скупове који су категорисани у складу са Правилником о публикацији научних публикација („Службени гласник РС”, бр. 77/10) и Правилником о мјерилима за остваривање и финансирање Програма одржавања научних скупова („Службени гласник РС”, бр. 102/14) односно припадност рада часописима индексираним у свјетским цитатним базама.

	Kovačević N, Uletilović S, Maksimović ŽM, Pavlović N, Dojčinović B, Bolevich S, et al. Cardioprotective Effects of Ursodeoxycholic Acid in Isoprenaline-Induced Myocardial Injury in Rats. <i>Biomolecules</i> . 2024; 14(10):1214. <a href="https://doi.org/10.3390/biom14101214">https://doi.org/10.3390/biom14101214</a>	M21	
<b>Припадност рада ужој научној области којој припада предмет истраживања докторске дисертације</b>		<u>ДА</u>	НЕ
РБ	Подаци о референци	Категорија	
2.	Dojcinovic, B.; Banjac, N.; Vukmirovic, S.; Dojcinovic, T.; Vasovic, L.V.; <b>Mihajlovic, D.</b> ; Vasovic, V. The LUSBI Protocol (Lung Ultrasound/ BREST Score/Inferior Vena Cava)—Its Role in a Differential Diagnostic Approach to Dyspnea of Cardiogenic and Non-Cardiogenic Origin. <i>Medicina</i> 2024, 60, 1521. <a href="https://doi.org/10.3390/medicina60091521">https://doi.org/10.3390/medicina60091521</a>	Prva kategorija M23	
<b>Припадност рада ужој научној области којој припада предмет истраживања докторске дисертације</b>		ДА	<u>НЕ</u>
РБ	Подаци о референци	Категорија	
3.	<b>Mihajlović D</b> , Mihajlović B, Todorović N, Maksimović MŽ. Risk Factors for Coronary Heart Disease and Family Medicine – What Can be Done? <i>Scr Med</i> 2021 Dec;52(4):258-65		
<b>Припадност рада ужој научној области којој припада предмет истраживања докторске дисертације</b>		<u>ДА</u>	НЕ
РБ	Подаци о референци	Категорија	
4.	<b>Mihajlović D</b> , Maksimović MŽ, Dojčinović B, Banjac N. Acute coronary syndrome (STEMI, NSTEMI and unstable angina pectoris) and risk factors, similarities and differences. <i>Scripta Medica</i> . 2020;5(4):252-60.	Prva kategorija	
<b>Припадност рада ужој научној области којој припада предмет истраживања докторске дисертације</b>		<u>ДА</u>	НЕ
РБ	Подаци о референци	Категорија	
5.	Gaćeša M, Gaćeša M, Hadžić R, Banjac N, <b>Mihajlović D</b> . Hypoglycemia treatment in Emergency department of Banjaluka. <i>ABC-časopis urgentne medicine</i> . 2016;16(3):15-21.	M53	
<b>Припадност рада ужој научној области којој припада предмет истраживања докторске дисертације</b>		ДА	<u>НЕ</u>
РБ	Подаци о референци	Категорија	
6.	Đukić B, Hotić-Lazarević S, Tadić D, <b>Mihajlović D</b> . Sideropenijska anemija u generativnom periodu žena: rezultati istraživanja u Domu zdravlja Banja Luka. <i>Biomedicinska istraživanja</i> . 2014;5(2):25-29.	Prva kategorija	
<b>Припадност рада ужој научној области којој припада предмет истраживања докторске дисертације</b>		ДА	<u>НЕ</u>

РБ	Подаци о референци	Категорија
7.	Banjac N, Maravic-Oplakan G, Kovacevic B, Jelovac L, <b>Mihajlovic D</b> , Burgic-Radmanovic M, Kovacevic D. Incidence and Pre-Hospital Care of Acute Coronary Syndrome in Emergency Department Banja Luka. Prehospital and Disaster Medicine. 2011;30(1):107.	
<b>Припадност рада ужој научној области којој припада предмет истраживања докторске дисертације</b>		<u>ДА</u> НЕ
РБ	Подаци о референци	Категорија
8.	Banjac N, Gaćeša M, <b>Mihajlović D</b> , Kozomara S, Maravić-Oplakan G, Galić B. Prevalence of allergic reactions at the Emergency Medical Department of the Healthcare Centre of Banja Luka. ABC-časopis urgentne medicine. 2011;11(2-3): 15-21.	M53
<b>Припадност рада ужој научној области којој припада предмет истраживања докторске дисертације</b>		ДА <u>НЕ</u>
РБ	Подаци о референци	Категорија
9.	Banjac N, Gaćeša M, <b>Mihajlović D</b> , Lazarević A, Grbić D, Grbić D. Analysis of cardiopulmonary resuscitation at the Emergency Medical Service Banjaluka performed according to the resuscitation protocol. Naučni časopis urgentne medicine-Halo 94. 2010;17(1):19-34.	M53
<b>Припадност рада ужој научној области којој припада предмет истраживања докторске дисертације</b>		ДА <u>НЕ</u>

### 3. УВОДНИ ДИО ОЦЈЕНЕ ДОКТОРСКЕ ДИСЕРТАЦИЈЕ

Наслов докторске дисертације: „Улога хенодеоксихолне и урсодеоксихолне киселине на функционлне и биохемијске промјене срца на моделу изопреналинске кардиотоксичности код пацова”.

Научно поље: Медицинске науке

Ужа научна област: Кардиологија, Физиологија

Датум прихватања теме докторске дисертације и бројеви одлука одговарајућих органа чланица и Универзитета.

Научно-наставно вијеће Медицинског факултета Универзитета у Бањој Луци, на сједници одржаној дана 14. 10. 2021. је донијело Одлуку о прихватању теме докторске дисертације под редним бројем 18/3. 607/21. Извјештај комисије за оцјену подобности студента, теме и ментора Научно-наставног вијећа Медицинског факултета Универзитета у Бањој Луци је

прихваћен на сједници одржаној 10. 11. 2021. године, Одлуком под редним бројем 18/3. 685/21, а Сенат Универзитета у Бањој Луци је Одлуком бр. 02/04-3.2670-35/21 одржаној 25. 11. 2021. дао сагласност о прихватању Извјештаја Комисије Медицинског факултета универзитета у Бањој Луци.

Дисертација је написана латиничним писмом, фонтом Times New Roman величине слова 12 pt са проредом 1,5 и то на 112 странице, формат А4. Почетни дио дисертације садржи 9 страна које нису нумерисане, а чини их насловна страна дисертације на српском и енглеском језику, резиме на српском и енглеском језику, садржај и захвалница. Садржај је распоређен у 9 поглавља, и то:

1. Увод приказан на 33 стране
2. Циљеви истраживања написани на 1 страни
3. Хипотеза истраживања написана на 1 страни
4. Материјал и методе написани на 7 страна
5. Резултати написани на 10 страна
6. Дискусија написана на 7 страна
7. Закључци написани на 1 страни
8. Литература написана на 25 страна
9. Листа скраћеница написан на 3 стране

На крају дисертације која обухвата 5 страница текста се налазе:

- Прилог 1
- Прилог 2
- Биографија аутора

Уз наведена поглавља налазе се:

- Потписана Изјава и ауторству
- Потписана Изјава којом се овлашћује Универзитет у Бањој Луци да се докторска

дисертација учини јавно доступном

Потписану Изјаву о аутентичности штампане и електронске верзије докторске дисертације

Докторска дисертација садржи 10 табела и 18 слика, а цитирана су 266 литерарна извора.

1. Наслов докторске дисертације.
2. Научно поље и ужа научна област.
3. Датум прихватања теме докторске дисертације и бројеви одлука одговарајућих органа чланица и Универзитета.
4. Датум прихватања Извјештаја комисије за оцјену подобности студента, теме и ментора за израду докторске дисертације и бројеви одлука одговарајућих органа чланица и Универзитета.
5. Садржај докторске дисертације уз навођење броја страна.
6. Истаћи основне податке о докторској дисертацији: обавезно укључујући обим, број и називе поглавља, број табела, слика, шема, графикана и број литературних навода.

#### 4. УВОД И ПРЕГЛЕД ЛИТЕРАТУРЕ

У поглављу **Увод** наведено је акутни коронарни синдром (АКС) се дефинише као смањен доток крви у миокард што се манифестује као инфаркт миокарда са елевацијом СТ сегмента или АКС без елевације СТ, што укључује нестабилну ангину и инфаркт миокарда без елевације СТ сегмента. Описани су различити патофизиолошки механизми настанка АКС, као и њихова дијагностика. Такође је наведено да је исхемијска болест срца најчешћи узрок смрти од кардиоваскуларних болести, чинећи 38% свих смртних случајева од кардиоваскуларних болести код жена и 44% код мушкараца. Оксидативни стрес дефинисан као дисрегулација између производње реактивних оксидативних врста и ендогених антиоксидативних механизма укључен је развој и напредовање клиничког и експерименталног АКС. Претјерани инфламаторни одговор након инфаркта миокарда може проузроковати непожељно ремоделовање срца и довести до даље оштећења срчаног ткива и настанка срчане инсуфицијенције. Апоптоза као програмирана ћелијска смрт је често присутна и описана приликом акутне повреде срчаног ткива. У уводу је такође описан значај и улога NF- $\kappa$ B, TNF- $\alpha$  и ВАХ у инфаркту миокарда.

Жучне киселине су веома значајне сигналне молекуле, које овисно од своје хидрофилности могу имати цитотоксичну или цитопротектичну улогу. Урсодеоксихолна киселина јесте физиолошка, хидрофилна, секундарна жучна киселина која испољава значајну антиоксидативну активност. Такође као сигнална молекула регулише путеве

укључене у настанак инфламације и апоптозе. Кардиопротективна улога жучних киселина у инфаркту миокарда није у детаљно испитана и описана. Стога је с обзиром на описана дејства која жучне киселине испољавају, неопходна је детаљна евалуација улоге жучних киселина у експерименталном моделу акутне повреде срчаног ткива.

У поглављу **Циљеви истраживања**, исти су јасно наведени:

1. Испитати ефекте изопреналином (ИСО) индукованог оштећења срца пацова:
  - концентрације срчаних биомаркера у серуму пацова (високо сензитиван тропонин I - hsTnI, лактатна дехидрогеназа - ЛДХ, аспартат аминотрансферазу - AST);
  - ензимске маркере оксидативног стреса и ремоделовања у хомогенату срца пацова (супероксид дисмутаза - SOD, каталазу - CAT, глутатион - GSH), реактивне супстанце тиобарбитурне киселине (TBARS) ;
  - функционалне и биохемијске показатеље срчане активности (проинфламаторне повезане цитокинске гене и гене који регулишу апоптозу): BAX, TNF, NF- $\kappa$ B, BCL2;
  - биохемијске маркере у серуму пацова: глукозеаланин аминотрансфераза-ALT, липидни статус (HDL-холестерол, LDL-холестерол, укупни холестерол, триглицериди), хомоцистеин, глукозу, Д-димер, фон Вилебрандов фактор- vWF, фибриноген;
  - патохистолошке промјене у срцу пацова (присуство неутрофила у пољу оштећења, површина поља оштећења).
2. Испитати ефекте урсодеоксихолне (UDCA) киселине на моделу оштећења срца изазваног ISO на наведене параметре.
3. Испитати ефекте хенодеоксихолне (CDCA) на моделу оштећења срца пацова изазваног ISO на наведене параметре.
4. Испитати ефекте пропилен гликола (PG) на моделу оштећења срца пацова изазваног ISO на наведене параметре.

У поглављу **Хипотезе**, исте су јасно наведене:

1. Примјеном изопреналин (ISO) долази до оштећења срца пацова на које указују:
  - Пораст концентрације срчаних биомаркера у серуму пацова (високо сензитиван тропонин I - hsTnI, лактат дехидрогеназа- LDH, аспартат аминотрансфераза - AST);
  - Промјена ензимске активности ензима оксидативног стреса и ремоделовања срца пацова (супероксид дисмутаза - SOD, каталазу - CAT, глутатион - GSH), реактивне супстанце тиобарбитурне киселине (TBARS);
  - Промјена показатеља срчане активности укључујући: BAX, TNF, NF- $\kappa$ B i BLC2;
  - Пораст биохемијских маркера у серуму пацова: глукозеаланин аминотрансфераза - ALT, липидни статус (HDL -холестерол, LDL - холестерол, укупни холестерол, триглицериди), хомоцистеин;
  - Појава патохистолошких промјена у срцу пацова (присуство неутрофила у пољу оштећења, површина поља оштећења).
2. Примјена урсодеоксихолне (UDCA) киселине смањује степен оштећења ткива срца изазваног изопреналином (ISO) и доводи до промјене вриједности функционалних и биохемијских показатеља срчане активности
3. Примјена хенодеоксихолне (CDCA) смањује степен оштећења ткива срца изазваног изопреналином (ISO) и доводи до промјене вриједности функционалних и биохемијских показатеља срчане активности
4. Примјена пропилен гликола (PG) не утиче на степен оштећења ткива срца изазваног изопреналином (ISO) и не доводи до промјене вриједности функционалних и биохемијских показатеља срчане активности

### **Кратак преглед претходних истраживања и литературе**

Кардиопротекција је често кориштен термин који обухвата све мјере усмјерене на превенцију повреде срца и умањење посљедица након кардиоваскуларног догађаја.



Коронарна болест срца је најчешћи облик срчаних обољења, која често доводи до акутног инфаркта миокарда [1]. Преваленца инфаркта миокарда је 3,8% у општој популацији, а чак 9,5% код старијих особа, са очекивањем даљег пораста у будућности [2]. Фармакотерапија инфаркта миокарда се побољшавала током година, мада и даље постоје одређене контраверзе [3,4]. С обзиром на растућу преваленцу и озбиљност инфаркта миокарда, постоји константна потреба за идентификовањем додатних превентивних и терапијских могућности за ово стање.

Један од најчешће кориштених и проучаваних експерименталних модела инфаркта миокарда код животиња је модел акутне повреде миокарда изазван изопреналином [5]. Изопреналин је синтетички неселективни агонист  $\beta$  рецептора, првобитно развијен за лијечење аритмија, као што је *torsade de pointes* [6]. Клиничка примјена изопреналина није успела, јер је изопреналин доводио до производње слободних радикала и изазивања оксидативног стреса, што је даље доводило до оштећења миокарда. Аутооксидовани интермедијери изопреналина покрећу липидну пероксидацију, док прекомерна стимулација изопреналином повећава ниво NF- $\kappa$ B, доводећи до настанка ћелијске смрти [7,8]. Иако је повучен из клиничке употребе, изопреналин је нашао своју улогу као модел супстанца за тестирање превентивних и заштитних ефеката природних и синтетичких једињења у моделу акутног оштећења миокарда [9-11]. Главни разлози за избор изопреналинског модела у евалуацији кардиопротективних ефеката неког једињења су његова сличност са повредом миокарда изазваном акутним инфарктом миокарда код људи и висока репродуктивност у експерименталним условима на животињама [12].

Урсодеоксихолна киселина (UDCA) је најхидрофилнија секундарна жучна киселина која је природно присутна у људској жучи, а настаје трансформацијом примарне жучне киселине, хенодеоксихолне киселине. UDCA је нашла широку примјену у клиничком љечењу холестатских обољења јетре [13]. Бројне студије описују везу између холелитијазе и коронарне болести срца, показујући да пацијенти који пате од холелитијазе имају повећан ризик од кардиоваскуларних компликација као што је инфаркт миокарда [14]. Болести жучне кесе и билијарног система углавном су повезане са неколико кардиоваскуларних обољења, укључујући аритмије, миокардну исхемију и Такоцубо синдром [15]. Мета-анализа је открила да је укупни ризик за развој кардиоваскуларних обољења повећан за до 33% код пацијената са дијагностикованим жучним каменцима [14]. Цитопротективна улога UDCA је добро позната, а њени други биолошки ефекти,

укључујући антиинфламаторне и антиоксидативне ефекте, такође су описани [16-18]. Дуго се сматрало да је једина улога жучних киселина емулзификација масти. Ипак, све више доказа указује на то да жучне киселине, укључујући UDCA, могу дјеловати као сигналне молекуле, регулишући метаболизам и имунитет кроз модулацију специфичних рецептора. Један од тих рецептора је Такеда G-протеин рецептор 5 (TGR5), који регулише имунолошки одговор и апоптозу, а такође смањује експресију нуклеарног фактора капа-лаког ланца енхансера активираних В ћелија (NF-κB) [19,20]. Активација овог рецептора, уз смањење производње реактивних врста кисеоника (ROS), могу бити механизми који су у основи цитопротективне улоге UDCA код акутног оштећења миокарда [21]. У пре-клиничким студијама, показано је да UDCA успјешно смањује величину инфаркта и побољшава хемодинамске параметре у исхемијско-реперфузијској повреди срца [22,23]. UDCA смањује аритмије изазване миокардном исхемијом код пацова и штити феталне кардиомиоците од апоптозе код трудних пацова са интра-хепатичном холестазом [24,25]. Комбинација наведених корисних својстава указује на потенцијал употребе UDCA у превенцији и љечењу кардиоваскуларних обољења, као што је исхемијска болест срца.

#### Литература:

1. Safiri, S.; Karamzad, N.; Singh, K.; Carson-Chahhoud, K.; Adams, C.; Nejadghaderi, S.A.; Almasi-Hashiani, A.; Sullman, M.J.M.; Mansournia, M.A.; Bragazzi, N.L.; et al. Burden of ischemic heart disease and its attributable risk factors in 204 countries and territories, 1990-2019. *Eur J Prev Cardiol* **2022**, 420-431. doi: 10.1093/eurjpc/zwab213
2. Salari, N.; Morddarvanjoghi, F.; Abdolmaleki, A.; Rasoulpoor, S.; Khaleghi, A.A.; Hezarkhani, L.A.; Shohaimi, S.; Mohammadi, M. The global prevalence of myocardial infarction: a systematic review and meta-analysis. *BMC Cardiovasc Disord* **2023**, 23(1), 206. doi: 10.1186/s12872-023-03231-w
3. Ibanez, B.; James, S.; Agewall, S.; Antunes, M.J.; Bucciarelli-Ducci, C.; Bueno, H.; Caforio, A.L.P.; Crea, F.; Goudevenos, J.A.; Halvorsen, S.; et al. 2017 ESC Guidelines for the management of acute myocardial infarction in patients presenting with ST-segment elevation: The Task Force for the management of acute myocardial infarction in patients presenting with ST-segment elevation of the European Society of Cardiology (ESC). *Eur Heart J* **2018**, 39(2), 119-177. doi: 10.1093/eurheartj/ehx393
4. Maxwell, S. Emergency management of acute myocardial infarction. *Br J Clin Pharmacol*

- 1999, 48(3), 284-98. doi: 10.1046/j.1365-2125.1999.00998.x
5. Rona, G.; Kahn, D.S.; I Chappel, C. Studies on Infarct-like Myocardial Necrosis Produced by Isoproterenol: A Review. *Rev Can De Biol* **1963**, 22, 241–255
  6. Kemper, A.J.; Dunlap, R.; Pietro, D.A. Thioridazine-induced torsade de pointes. Successful therapy with isoproterenol. *JAMA* **1983**, 249(21), 2931-2934.
  7. Shao, Y.; Redfors, B.; Scharin, Täng, M.; Möllmann, H.; Troidl, C.; Szardien, S.; Hamm, C.; Nef, H., Borén, J. et al. Novel rat model reveals important roles of  $\beta$ -adrenoreceptors in stress-induced cardiomyopathy. *Int J Cardiol* **2013**, 168(3), 1943-1950. doi: 10.1016/j.ijcard.2012.12.092.
  8. Raish, M. Momordica charantia polysaccharides ameliorate oxidative stress, hyperlipidemia, inflammation, and apoptosis during myocardial infarction by inhibiting the NF- $\kappa$ B signaling pathway. *Int J Biol Macromol* **2017**, 97, 544-551. doi: 10.1016/j.ijbiomac.2017.01.074.
  9. Marinković, S.T.; Đukanović, Đ.; Duran, M.; Bajic, Z.; Sobot, T.; Uletilović, S.; Mandić-Kovacević, N.; Cvjetković, T.; Maksimović, Ž.M.; Maličević, U.; et al. Pomegranate Peel Extract Attenuates Isoprenaline-Induced Takotsubo-like Myocardial Injury in Rats. *Pharmaceutics* **2023**, 15(6), 1697. doi: 10.3390/pharmaceutics15061697
  10. Bajic, Z.; Sobot, T.; Uletilovic, S.; Mandic-Kovacevic, N.; Cvjetkovic, T.; Malicevic, U.; Djukanovic, D.; Duran, M.; Vesic, N.; Avram, S.; et al. Cardioprotective effects of liraglutide pretreatment on isoprenaline-induced myocardial injury in rats. *Can J Physiol Pharmacol* **2023**, 101(5), 258-267. doi: 10.1139/cjpp-2022-0534. Epub 2023 Feb 27
  11. Sobot, T.; Bajic, Z.; Skrbic, R.; Uletilovic, S.; Mandic-Kovacevic, N.; Cvjetkovic, T.; Malicevic, U.; Djukanovic, D.; Bojic, M.G.; Jovicic, S.; et al. Effect of folic acid on isoprenaline-induced myocardial injury in rats. *Physiol Int* **2024**, 111(1), 80-96. doi: 10.1556/2060.2023.00291
  12. Wong, Z.W.; Thanikachalam, P.V.; Ramamurthy, S. Molecular understanding of the protective role of natural products on isoproterenol-induced myocardial infarction: A review. *Biomed Pharmacother* **2017**, 94, 1145-1166. doi:10.1016/j.biopha.2017.08.009
  13. Kowdley, K.V. Ursodeoxycholic acid therapy in hepatobiliary disease. *Am J Med* **2000**, 108(6), 481-486. doi: 10.1016/s0002-9343(00)00318-1
  14. Zheng, Y.; Xu, M.; Li, Y.; Hruby, A.; Rimm, E.B.; Hu, F.B.; Wirth, J.; Albert, C.M.; Rexrode, K.M.; Manson, J.E.; et al. Gallstones and Risk of Coronary Heart Disease: Prospective Analysis of 270 000 Men and Women From 3 US Cohorts and Meta-Analysis. *Arterioscler Thromb Vasc Biol* **2016**, 36(9), 1997-2003. doi:

10.1161/ATVBAHA.116.307507

15. Li, Y.; Li, J.; Leng, A.; Zhang, G.; Qu, J. Cardiac complications caused by biliary diseases: A review of clinical manifestations, pathogenesis and treatment strategies of cholecardia syndrome. *Pharmacol Res* **2024**, *199*:107006. doi: 10.1016/j.phrs.2023.107006.
16. Amaral, J.D.; Viana, R.J.; Ramalho, R.M.; Steer, C.J.; Rodrigues, C.M. Bile acids: regulation of apoptosis by ursodeoxycholic acid. *J Lipid Res* **2009**, *50*(9), 1721-1734. doi: 10.1194/jlr.R900011-JLR200.
17. Ko, W.K.; Kim, S.J.; Jo, M.J.; Choi, H.; Lee, D.; Kwon, I.K.; Lee, S.H.; Han, I.B.; Sohn, S. Ursodeoxycholic Acid Inhibits Inflammatory Responses and Promotes Functional Recovery After Spinal Cord Injury in Rats. *Mol Neurobiol* **2019**, *56*(1), 267-277. doi: 10.1007/s12035-018-0994-z.
18. Lukivskaya, O.; Patsenker, E.; Buko, V.U. Protective effect of ursodeoxycholic acid on liver mitochondrial function in rats with alloxan-induced diabetes: link with oxidative stress. *Life Sci* **2007**, *80*(26), 2397-2402. doi: 10.1016/j.lfs.2007.02.042.
19. Pavlovic, N.; Stanimirov, B.; Mikov, M. Bile Acids as Novel Pharmacological Agents: The Interplay Between Gene Polymorphisms, Epigenetic Factors and Drug Response. *Curr Pharm Des* **2017**, *23*(1), 187-215. doi: 10.2174/1381612822666161006161409.
20. Milivojac, T.; Grabež, M.; Krivokuća, A.; Maličević, U.; Gajić, Bojić, M.; Đukanović, Đ.; Uletilović, S.; Mandić-Kovačević, N.; Cvjetković, T.; Barudžija, M.; et al. Ursodeoxycholic and chenodeoxycholic bile acids attenuate systemic and liver inflammation induced by lipopolysaccharide in rats. *Mol Cell Biochem.* **2024**, doi: 10.1007/s11010-024-04994-2.
21. Sokolovic, D.; Nikolic, J.; Kocic, G.; Jevtovic-Stoimenov, T.; Veljkovic, A.; Stojanovic, M.; Stanojkovic, Z.; Sokolovic, D.M.; Jelic, M. The effect of ursodeoxycholic acid on oxidative stress level and DNase activity in rat liver after bile duct ligation. *Drug Chem Toxicol* **2013**, *36*(2), 141-148. doi: 10.3109/01480545.2012.658919.
22. Lee, W.Y.; Han, S.H.; Cho, T.S.; Yoo, Y.H.; Lee, S.M. Effect of ursodeoxycholic acid on ischemia/reperfusion injury in isolated rat heart. *Arch Pharm Res* **1999**, *22*(5), 479-84. doi: 10.1007/BF02979156.
23. Rajesh, K.G.; Suzuki, R.; Maeda, H.; Yamamoto, M.; Yutong, X.; Sasaguri, S. Hydrophilic bile salt ursodeoxycholic acid protects myocardium against reperfusion injury in a PI3K/Akt dependent pathway. *J Mol Cell Cardiol* **2005**, *39*(5), 766-776. doi: 10.1016/j.yjmcc.2005.07.014.
24. Ferraro, E.; Pozhidaeva, L.; Pitcher, D.S.; Mansfield, C.; Koh, J.H.B.; Williamson, C.;

Aslanidi, O.; Gorelik, J.; Ng, F.S. Prolonged ursodeoxycholic acid administration reduces acute ischaemia-induced arrhythmias in adult rat hearts. *Sci Rep* **2020**, *10(1)*, 15284. doi: 10.1038/s41598-020-72016-4.

25. Song, Z.; Tian, X.; Shi, Q. Fas, Caspase-8, and Caspase-9 pathway-mediated bile acid-induced fetal cardiomyocyte apoptosis in intrahepatic cholestasis pregnant rat models. *J Obstet Gynaecol Res* **2021**, *47(7)*:2298-2306. doi: 10.1111/jog.14765.

1. Укратко описати разлоге због којих су истраживања предузета и представити проблем, предмет, циљеве и хипотезе.
2. На основу прегледа литературе, сажето приказати резултате претходних истраживања у вези проблема који је истраживан (водити рачуна да обухвата најновија и најзначајнија сазнања из те области код нас и у свијету).
3. Навести допринос тезе у рјешавању изучаваног предмета истраживања.
4. Навести очекивани научни и практични допринос дисертације.

## 5. МАТЕРИЈАЛ И МЕТОДОЛОГИЈА РАДА

Истраживање је урађено као експериментална студија на пацовима соја *Wistar albino*, старости 3-4 седмице и почетне тјелесне масе око 200-250 g на почетку експеримента. Животиње су аклиматизоване 7 дана прије интервенције и чуване у плексиглас-транспарентним кавезима са жичаним поклопцем (двје животиње по кавезу) са дном обложеним шушком, са храном и водом доступном *ad libitum* и константним амбијенталним условима (температура  $21 \pm 2$  °C; влажност ваздуха  $55 \pm 5$  %; циклусом свјетло-тама на 12 сати са почетком свијетлог периода у 08:00h и тамног периода у 20:00h). Истраживање је спроведено у складу са дозволом Етичке комисије/одбора за заштиту добробити експерименталних животиња, Медицинског факултета Универзитета у Бањој Луци, уз поштовање Правилника о чувању, начину његе, поступању и лишавању живота експерименталних животиња.

Модел оштећења миокарда пацова је заснован на апликацији изопренилина (ISO) у предјелу леђа субкутано у дози од 85 mg/kg ТМ, растворен у 1 ml/kg тјелесне масе (ТМ) 0,9% NaCl-а, два пута у интервалу од 24 сата. Експериментални модел оштећења миокарда код пацова је доказан анализом динамике продукције биомаркера оштећења срца у серуму (серум је добијен узорковањем крви након жтровоња животиње), као и потврђивањем одговарајућим патохистолошким налазом на срцу (такође након жтровоња животиње). *In vivo* оглед је подразумијевао формирање два различита експериментална модела:

контролну групу и експерименталну групу. Контролна група је имала 1 групу (подгрупу). Експериментална група је имала укупно 5 група (подгрупа).

Контролна група (C) - број животиња је 6 (n=6). Овој групи је апликовано током 10 дана вехикулум за жучне киселине - пропилен гликол (PG) *per os*, с тим да је 9-ог и 10-ог дана дат и 0,9% NaCl s.c. у предјелу леђа, два пута у размаку од 24 h у дози 1 ml/kg тјелесне тежине. Након тога (24 h након задње апликације физиолошког раствора тј. 11-ог дана) вршено је жртвовање животиње уз претходну анестезију.

Експерименталне групе су подијељене у 5 подгрупа. Укупан број животиња у овој групи је 39. Подгрупе су сљедеће:

- I група – број животиња је 8 (n=8). Овој групи је апликовано током 10 дана вехикулум за жучне киселине - пропилен гликол (PG) *per os*, с тим да је 9-ог и 10-ог дана дат и изопреналин (ISO) s.c. у предјелу леђа, два пута у размаку од 24 h у дози 85 mg/kg тјелесне тежине. Након тога (24 h након задње апликације ISO тј. 11-ог дана) вршено је жртвовање животиње уз претходну анестезију.
- UDCA група – број животиња је 6 (n=6). Овој групи је апликовано током 10 дана урсодеоксихолна киселина (UDCA) *per os* у дози од 25mg/kg тјелесне тежине, с тим да је 9-ог и 10-ог дана дат и 0,9% NaCl 0 s.c. у предјелу леђа, два пута у размаку од 24 h у дози 1 ml/kg тјелесне тежине. Након тога (24 h након задње апликације физиолошког раствора тј. 11-ог дана) вршено је жртвовање животиње уз претходну анестезију.
- CDCA група – број животиња је 6 (n=6). Овој групи је апликовано током 10 дана хенодеоксихолна киселина (CDCA) *per os* у дози од 25mg/kg тјелесне тежине, с тим да је 9-ог и 10-ог дана дат и 0,9% NaCl s.c. у предјелу леђа, два пута у размаку од 24 h у дози 1 ml/kg тјелесне тежине. Након тога (24 h након задње апликације физиолошког раствора тј. 11-ог дана) вршено је жртвовање животиње уз претходну анестезију.
- UDCA I група – број животиња је 10 (n=10). Овој групи је апликовано током 10 дана урсодеоксихолна киселина (UDCA) *per os* у дози од 25mg/kg тјелесне тежине, с тим да је 9-ог и 10-ог дана дат и изопреналин (ISO) s.c. у предјелу леђа, два пута у размаку од 24 h у дози 85 mg/kg тјелесне тежине. Након тога (24 h након задње апликације ISO тј. 11-ог дана) вршено је жртвовање животиње уз претходну анестезију.

- CDCA I група – број животиња је 9 (n=9). Овој групи је апликовано током 10 дана хенодеоксихолна киселина (CDCA) *per os* у дози од 25mg/kg тјелесне тежине, с тим да је 9-ог и 10-ог дана дат и изопреналин (ISO) s.c. у предјелу леђа, два пута у размаку од 24 h у дози 85 mg/kg тјелесне тежине. Након тога (24 h након задње апликације ISO тј. 11-ог дана) вршено је жртвовање животиње уз претходну анестезију.

Након друге дозе ISO, 11-ог дана, животиње су прво анестезиране, а затим жртвоване ексангвинацијом при чему су сакупљени узорци крви и ткива за даље анализе. Из добијених узорака спроведена су одређивања горе наведених биохемијских параметара и патохистолошка нализа срчаног ткива.

1. Описати и дати основне карактеристике материјала који је обрађиван, критеријуме који су узети у обзир за избор материјала.
2. Дати кратак увид у примијењени метод истраживања, при чему је важно оцијенити сљедеће:
  - a. Да ли су примијењене методе истраживања адекватне, довољно тачне и савремене, имајући у виду достигнућа на том пољу у свјетском оквиру;
  - b. Образложити евентуалне измјене првобитног плана истраживања;
  - c. Да ли је обим истраживања довољан за доношење поузданих закључака или је потребно проширити постојеће или увести нове методе;
  - d. Да ли је статистичка обрада података адекватна, ако је кориштена при обради резултата.

## 6. РЕЗУЛТАТИ И НАУЧНИ ДОПРИНОС ИСТРАЖИВАЊА

У поглављу **Резултати**, исти су јасно дефинисани и тумачени, док су у поглављу **Дискусија**, анализирани у односу на резултате претходних студија.

Биохемијски налази су показали да су вриједности hsTnI значајно повећане у групи која је примала изопреналин, док је UDCA претретман успио да смањи вриједности овог параметра. Такође претретман са UDCA је смањио и вриједност AST-а, другог значајног биохемијског параметра оштећења срчаног ткива. Ни UDCA ни CDCA претретман нису довели до статистички значајне промјене у вриједностима параметара липидног профила. UDCA је довео до побољшања антиоксидативног капацитета срчаног ткива, повећавајући вриједности ендогених антиоксидативних молекула као што је глутатион, али и показујући тенденцију у расту активности антиоксидативних ензима каталазе и супероксид дизмугазе. Такође скок вриједности TBARS-а (параметра оксидативног стреса), изазван примјеном исопреналина, смањен је у групи пацова који су били

претретирани са UDCA. Слична побољшања у оксидативном статусу срчаног ткива примјеђена су и након претретмана са CDCA.

Експресија гена NF- $\kappa$ B и TNF $\alpha$  у срчаном ткиву је појачана након примјене изопренилина, указујући на присуство израженог инфламаторног одговора у оштећеном срчаном ткиву. Примјена UDCA довела је до значајног пада у експресији NF- $\kappa$ B и до тенденције у смањењу експресије гена TNF $\alpha$ .

BAX ген је проапоптотски ген чија појачана експресија изазвана изопренилином указује на присуство апоптозе у оштећеном срчаном ткиву. UDCA је такође значајно умањио експресију овог гене, показујући на тај начин своје антиапоптотско дејство.

Патохистолошка анализа срчаног ткива показала је озбиљно оштећење миокарда у изопренилској групи пацова, окарактерисано интерстицијалним едемом, инфилтрацијом полиморфонуклеарних ћелија у ендомизијум и фрагментацијом кардиомиоцита. UDCA је умањио оштећење срчаног ткива изазвано изопренилином, показујући умањени степен едема као и само иницијалну фрагментацију кардиомиоцита. У случају CDCA претретмана морфологија срчаног ткива је значајно измјењена, са присутним интерстицијалним едемом, инфилтратом неутрофила и значајном фрагментацијом кардиомиоцита.

Резултати докторске дисертације су приказани правилно, логично и тумачени јасно, а такође су наведена ограничења студије и поређења са сличним истраживањима. Нова сазнања о улози жучних киселина у моделу акутног срчаног оштећења, те њиховом утицају на биохемијске, инфламаторне и параметре оксидативног стреса, као и на патохистолошке промјене срчаног ткива, показују изузетан допринос у области кардиологије. Урсодеооксихолна киселина је показала значајно кардиопротективно дејство, које је резултат комбинације њеног антиоксидативног, антиинфламаторног, антиапоптотског дејства, а такође се огледа и смањеним хистолошким промјенама у срчаном ткиву.

1. Укратко навести резултате до којих је студент дошао.
2. Оцијенити да ли су добијени резултати јасно приказани, правилно, логично и јасно тумачени, упоређујући их са резултатима других аутора и да ли је студент при томе испољавао довољно критичности.
3. Посебно је важно истаћи до којих нових сазнања се дошло у истраживању, који је њихов теоријски и практични допринос, те да ли указују на нове правце истраживања.



## 7. ЗАКЉУЧАК И ПРИЈЕДЛОГ

Докторска дисертација мр спец. др мед. Далибора Михајловића, под називом „Улога хенодеоксихолне и урсодеоксихолне киселине на функционлне и биохемијске промјене срца на моделу изопреналинске кардиотоксичности код пацова” је написана према одобреној пријави, принципима израде научно-истраживачког рада, те представља оригинално и самостално дјело кандидата.

Описане методе истраживања су адекватне, те је њиховом примјеном могуће добити поуздан резултате.

Докторска дисертација према добијеним и описаним резултатима, као и изнијетим закључцима представља оригинални научни допринос у области медицине и кардиологије.

Резултатима ове докторске дисертације и описани ефекти UDCA и CDCA на функционалне и биохемијске промјене у оштећеном миокарду, указују на могућност примјене UDCA у кардиопротекцији.

Преклиничка испитивања на животињама омогућила су сакупљање података који су показали позитивне ефекте UDCA на очување функције миокарда. Ови подаци указују да би у клиничкој пракси примјена UDCA могла имати позитивне ефекте код пацијената који имају ризик од оштећења срчаног ткива.

Ово је изузетно значајно за пацијенте који болују од жучних болести и под ризиком су за акутно оштећење срца, гдје би примјена UDCA уједно лијечила примарно обољење и смањила ризик за оштећење миокарда.

Чланови комисије на основу укупне оцјене докторске дисертације једногласно дају позитивну оцјену о завршеној докторској дисертацији под називом „Улога хенодеоксихолне и урсодеоксихолне киселине на функционлне и биохемијске промјене срца на моделу изопреналинске кардиотоксичности код пацова” др мед. Далибора Михајловића и предлажу члановима Научно-наставног вијећа Медицинског факултета Универзитета у Бањој Луци да прихвате овај извјештај и омогуће кандидату јавну одбрану своје докторске дисертације пред Комисијом у истом саставу.

1. Навести најзначајније чињенице које дају научни значај тези.
2. На основу укупне оцјене дисертације, комисија предлаже:
  - да се докторска дисертација прихвати, а студенту одобри одбрана,
  - да се докторска дисертација враћа студенту на дораду (да се допуни или измијени) или
  - да се докторска дисертација одбија.

Мјесто и датум:

Бања Лука, 30.9.2024.

---

Др Момир Миков, с.р. редовни професор, ужа научна област Фармакологија, токсикологија и клиничка фармакологија, Предсједник комисије

---

Др Милош Стојиљковић, с.р. редовни професор, ужа научна област Фармакологија, токсикологија и клиничка фармакологија, Члан

---

Др Дарко Голић, с.р. редовни професор, ужа научна област Патолошка физиологија, Члан

---

Др Дарко Јовић, с. р. ванредни професор, ужа научна област Хирургија, Резервни Члан

ИЗДВОЈЕНО МИШЉЕЊЕ: Члан комисије који не жели да потпише извјештај јер се не слаже са мишљењем већине чланова комисије дужан је да у извјештај унесе образложење, односно разлоге због којих не жели да потпише извјештај.

У прилогу Извјештаја доставити:

1. Одлуку о прихватању извјештаја Комисије за оцјену подобности студента, теме и ментора за израду докторске дисертације;
2. Одлуку о именовану Комисије за оцјену урађене докторске дисертације;
3. Доказе о подобности чланова Комисије за оцјену урађене докторске дисертације (радови и пратећи докази из члана 16. Правила студирања на III циклусу студија за студије започете закључно са академском годином 2021/2022, односно докази из члана 35. Правила студирања на трећем циклусу студија за студије започете од академске 2022/2023. године); и
4. Доказе о подобности кандидата (радови и пратећи докази из члана 15. Правила студирања на III циклусу студија за студије започете закључно са академском годином 2021/2022, односно докази из члана 34. Правила студирања на трећем циклусу студија за студије започете од академске 2022/2023. године).