

3

4

5 IZVEŠTAJ O OCENI ZAVRŠENE DOKTORSKE DISERTACIJE

6

7 I PODACI O KOMISIJI:

8

9 1. Datum i naziv organa koji je imenovao komisiju:

10 Nastavno-naučno veće Fakulteta veterinarske medicine, Univerziteta u Beogradu na 161.
11 sednici održanoj 25.11.2015. godine

12 2. Sastav komisije sa naznakom imena i prezimena svakog člana, zvanja, naziva uže
13 naučne oblasti za koju je izabran u zvanje, godinom izbora u zvanje i naziv fakulteta,
14 ustanove u kojoj je član komisije zaposlen:

15 1. Dr Vanja Krstić, redovni profesor, Klinička patologija i terapija životinja, 2011, Fakultet
16 veterinarske medicine, Univerziteta u Beogradu

17 2. Dr Alenka Seliškar, docent, Veterinarska anesteziologija, 2006, Veterinarska fakulteta
18 Univerze v Ljubljani

19 3. Dr Danijela Kirovski, vanredni profesor, Fiziologija, 2011, Fakultet veterinarske medicine,
20 Univerziteta u Beogradu

21 4. Dr Mirjana Milovanović, docent, Farmakologija i toksikologija, 2012, Fakultet veterinarske
22 medicine, Univerziteta u Beogradu

23 5. Dr Sanja Stanković, naučni saradnik, Medicinska biohemija, 2014, Centar za medicinsku
24 biohemiju, Klinički centar Srbije

25

26 II PODACI O KANDIDATU:

27

28 1. Ime, ime jednog roditelja, prezime: Maja (Radovan) Vasiljević

29

30 2. Datum rođenja, opština, Republika: 07.07.1983. Šabac, Srbija

31

32 3. Datum odbrane, mesto i naziv magistarske teze*:

33

34 4. Naučna oblast iz koje je stečeno akademsko zvanje magistra nauka*:

1

2 **III NASLOV DOKTORSKE DISERTACIJE:**

3 Uticaj medetomidina u kombinaciji sa propofolom i sevofluranom na serumsku koncentraciju
4 srčanog troponina I kod pasa, prilikom gastroskopije

5

6 **IV PREGLED DOKTORSKE DISERTACIJE (navesti broja strana poglavlja, slika, šema,** 7 **grafikona i sl.):**

8 Doktorska disertacija diplomiranog veterinara Maje Vasiljević pod nazivom: "Uticaj
9 medetomidina u kombinaciji sa propofolom i sevofluranom na serumsku koncentraciju
10 srčanog troponina I kod pasa, prilikom gastroskopije", napisana je na 95 strana A4 formata i
11 sadrži 11 tabela i 7 grafikona. Disertacija sadrži sledeća poglavlja: Uvod (3 strane), Pregled
12 literature (25 strana), Cilj i zadaci istraživanja (2 strane), Materijal i metode (7 strana),
13 Rezultati (20 strana), Diskusija (10 strana), Zaključci (2 strane) i Literatura (206 referenci, 20
14 strana). Disertacija na samom početku sadrži Kratak sadržaj na srpskom i engleskom jeziku
15 (6 strana), kao i Zahvalnicu (1 strana).

16

17 **V VREDNOVANJE POJEDINIH DELOVA DOKTORSKE DISERTACIJE (dati kratak opis** 18 **svakog poglavlja disertacije: uvoda, pregleda literature, cilja i zadataka istraživanja,** 19 **materijal i metoda, rezultata, diskusije, spiska referenci):**

20 U **uvodu** kandidat iznosi, da je srčani troponin I (cTnI) najpouzdaniji i najsenzitivniji srčani
21 biomarker koji ukazuje na oštećenje miokarda. Oslobođanje troponina počinje između 4 i 6 h
22 nakon ćelijske smrti, dostiže pik između 18 i 24 h, a može se detektovati u krvi i do 14 dana.
23 Analiza serumske koncentracije cTnI ima značajnu ulogu kako kod subkliničkih, tako i kod
24 klinički vidljivih oštećenja miokarda. Iz dosadašnje literature poznato je da prilikom hirurških
25 intervencija, kako kod zdravih, tako i kod bolesnih pasa, dolazi do oslobađanja cTnI. Postavlja
26 se pitanje, da li do povećanja serumske koncentracije cTnI dolazi usled samog hirurškog
27 zahvata ili zbog anestezije. U kliničkoj praksi, za opštu anesteziju pasa, često se upotrebljava
28 kombinacija medetomidina sa propofolom i sevofluranom. Medetomidin se takođe može
29 koristiti i kao pojedinačni agens za sedaciju pasa. U uvodu kandidat iznosi da uticaj
30 medetomidina kao pojedinačnog agensa i u kombinaciji sa propofolom i sevofluranom na
31 serumsku koncentraciju cTnI kod kardiološki zdravih pasa nije dovoljno ispitan. Naime, u
32 dosadašnjim istraživanjima koncentracija cTnI je praćena samo u prvih 24 časa od aplikacije
33 medetomidina, koji je u tim istraživanjima davan u dozama značajno nižim od onih koje se
34 preporučuju u kliničkoj praksi i su korišćene u ovoj disertaciji. U literaturi nedostaju podaci o
35 uticaju klinički preporučenih doza medetomidina na koncentraciju cTnI u dužem vremenskom
36 periodu nakon njegove aplikacije i o uticaju kombinacije medetomidina sa propofolom i
37 sevofluranom na koncentraciju cTnI.

38 **Pregled literature** predstavlja sintezu velikog broja radova koji se odnose kako na srčane
39 biomarkere tako i na cTnI (referentni podaci, cTnI kod pasa sa različitim oboljenjima, cTnI kod
40 anesteziranih pasa). Opisane su i farmakološke karakteristike medetomidina, propofola i
41 sevoflurana, kao i njihov uticaj na kardiovaskularni sistem.

42 **Cilj** ove doktorske disertacije bio je usmeren ka ispitivanju da li medetomidin u dozi od 0,04
43 mg/kg aplikovan intravenski, kao pojedinačni agens za sedaciju pasa i u kombinaciji sa
44 propofolom i sevofluranom za sprovođenje opšte anestezije može da dovede do hipoksičnog
45 oštećenja miokarda. Indikator koji bi ukazivao na ovu pojavu je povećanje serumske

koncentracije cTnI kod pasa nakon 6, 12 časova i 4. dana od sedacije i opšte anestezije. Na osnovu zadatog cilja kandidat je postavio sledeće zadatke: 1. da se utvrdi uticaj intravenske sedacije sa medetomidinom u dozi od 0,04 mg/kg na serumsku koncentraciju cTnI kod pasa prilikom izvođenja ultrazvučnog ili ortopedskog pregleda i to 6 i 12 časova, kao i 4. dana nakon sedacije; 2. da se utvrdi uticaj intravenski aplikovanog propofola, u kombinaciji sa sevofluranom na serumsku koncentraciju cTnI kod pasa, prilikom izvođenja gastroskopije, i to 6 i 12 časova, kao i 4. dana od momenta sprovođenja opšte anestezije. Kod ove grupe pasa medetomidin se nije aplikovao i oni su činili kontrolnu grupu; 3. da se utvrdi uticaj intravenski aplikovanog medetomidina u dozi od 0,04 mg/kg u kombinaciji sa propofolom i sevofluranom na serumsku koncentraciju cTnI kod pasa, prilikom izvođenja gastroskopije, i to 6 i 12 časova, kao i 4. dana nakon sprovođenja opšte anestezije; 4. da se odredi vremenski period detekcije cTnI u serumu pasa, kao biomarkera hipoksičnog oštećenja miokarda nakon sedacije i opšte anestezije navedenim sedativima i anestetikima.

U poglavlju **Materijal i metode** navodi se da je ispitivanje bilo izvršeno na 66 pasa, podeljenih u tri grupe. Svi psi su bili pacijenti Klinike za male životinje, Fakulteta veterinarske medicine, Univerziteta u Beogradu.

Prva grupa (M grupa) je obuhvatala 20 pasa, od kojih je 15 bilo rasnih (8 mužjaka i 7 ženki), a 5 su bili mešanci (3 mužjaka i 2 ženke). Prosečna starost pasa je iznosila 6 godina i 8 meseci (2 do 10 godina), a prosečna telesna masa 17,1 kg (3 do 42 kg). Psi iz ove grupe su bili sedirani intravenskom aplikacijom medetomidina (0,04 mg/kg) radi izvođenja ultrazvučnog, odnosno ortopedskog pregleda.

Druga grupa (P+S grupa) je obuhvatala 20 pasa, od koji je 15 bilo rasnih (9 mužjaka i 6 ženki), a 5 su bili mešanci (2 mužjaka i 3 ženke). Prosečna starost pasa je iznosila 3 godine i 3 meseca (6 meseci do 9 godina), a prosečna telesna masa 10,6 kg (3 do 31 kg). Psi iz ove grupe su anestezirani kombinacijom propofola (6 do 8 mg/kg i.v.) i sevoflurana (4,5%) radi izvođenja gastroskopskog pregleda. Ova grupa pasa je predstavljala kontrolnu grupu, jer psima nije bio aplikovan medetomidin.

Treća grupa (M+P+S) je obuhvatala 26 pasa, od kojih je 17 bilo rasnih (4 mužjaka i 13 ženki), a 9 su bili mešanci (6 mužjaka i 3 ženke). Prosečna starost pasa u ovoj grupi je bila 3 godine i 6 meseci (1 do 8 godina), a prosečna telesna masa 19,4 kg (2 do 36 kg). Psi iz ove grupe su anestezirani kombinacijom medetomidina (0,04 mg/kg i.v.), propofola (1 do 3 mg/kg i.v.) i sevoflurana (3%) radi izvođenja gastroskopskog pregleda.

Opšti klinički pregled je rađen pre sedacije ili anestezije, i podrazumevao je merenje telesne temperature, frekvence srca i disanja, auskultaciju grudnog koša, određivanje vremena punjenja krvnih sudova, pregled vidljivih sluzokoža i limfnih čvorova. Krv za hematološke i biohemijske analize je bila uzorkovana nakon kliničkog pregleda. **Hematološke analize** (krvna slika i apsolutna i relativna leukocitarna formula sa krvnog razmaza) su rađene na automatskom hematološkom analizatoru *Abacus Junior Vet Hematology Analyzer SN130612* (Mađarska). **Biohemijske analize** krvnog seruma su rađene sa poluautomatskim biohemijskim spektrofotometrom *Vet evolution-Biochemical System International VT00300* (Biochemical System Internacional, Italija) pri čemu su određivane aktivnosti serumske aspartat-aminotransferaze (AST), alanin-transaminaze (ALT), alkalne-fosfataze (AP) i kreatinin kinaze (CK), te serumske koncentracije uree i kreatinina, ukupnih proteina, serumskih albumina i glukoze. Nakon opšteg kliničkog pregleda, uzorkovanja krvi za hematološka i biohemijska ispitivanja rađena je **elektrokardiografija** na aparatu *MINDRAY PM-9000 Vet* (Shanghai International Holding Corp. GmbH, Nemačka). Elektrokardiografskim pregledom i auskultacijom srca je utvrđen kardiološki status svih pasa.

Krv za određivanje početne vrednosti serumske koncentracije cTnI je uzorkovana pre sedacije ili anestezije, kao 6 i 12 časova i 4. dan posle sedacije ili anestezije, kada su psi dolazili na kontrolni opšti klinički pregled. Nakon koagulisanja krvi, izvršeno je centrifugiranje i izdvajanje seruma, a uzorci seruma su do momenta analiziranja u seriji čuvani na -20 °C. **Serumska koncentracija cTnI** je određivana korišćenjem komercijalnog testa ARCHITECT STAT Troponin-I na analizatoru ARCHITECT ci16200 (Abbott Diagnostics, Nemačka). Ovaj test je hemiluminiscentni imunološki test sa mikročesticama (CMIA). Ovaj test je verifikovan na uzorcima humane krvi i utvrđena je analitička senzitivnost $\leq 0,01$ ng/mL. **Validacijom testa** na uzorcima krvi pasa utvrđena je nepreciznost u seriji i nepreciznost između serija između 1,5 i 4,6 %, za 3 nivoa korišćenih komercijalnih kontrola. Vrednosti niže od granice detekcije od 0,006 ng/ml beležene su kao 0,0059 ng/ml u svrhu statističke analize. U rezultatima one se navode kao "<0,006 ng/ml".

Psima iz **grupe M** nakon postavljanja intravenske braunile (*Romed 22 G i 20 G*) u cefaličnu venu (*vena cephalica*) sedacija je rađena intavenskom aplikacijom medetomidina (Domitor, Orion Pharma, Finska) u dozi od 0,04 mg/kg. U toku sedacije psima je aplikovan infuzioni rastvor Hartmana (Hartmann's solution, HemofarmAD, Srbija) u dozi od 5 ml/kg/h intravenski. Psi iz **grupe P+S** su anestezirani intavenskom aplikacijom propofola (Diprivan, Astra Zeneca UK Ltd, Velika Britanija) u dozi od 6 do 8 mg/kg. Opšta anestezija je održavana inhalacionim anestetikom sevofluranom (Sevorane, Abbot, Kanada) u koncentraciji od 4,5 % u kiseoniku. Korišćen je inhalacioni aparat *Sutjeska, Tiberius 19A* (Draeger, Nemačka). Kod pasa iz **grupe M+P+S** premedikacija je rađena intravenskom aplikacijom medetomidina u dozi od 0,04 mg/kg, zatim uvođenje u anesteziju propofolom u dozi od 1 do 3 mg/kg, a opšta anestezija je održavana sevofluranom u koncentraciji od 3 % u kiseoniku. Sedacija i anestezija su trajale 35 minuta nakon čega je psima iz grupe M i grupe M+P+S aplikovan atipamezol u dozi od 0,1 mg/kg intramuskularno (Antisedan; Orion Pharma, Finska). Za vreme sedacije ili anestezije psima je praćena **frekvencija srčanih otkucaja** i vrednost **srednjeg arterijskog pritiska** pomoću aparata *MINDRAY PM-9000 Vet* (Shanghai International Holding Corp. GmbH, Nemačka).

Statistička značajnost dobijenih vrednosti za serumsku koncentraciju cTnI na osnovu različitih protokola, kao i prosečne vrednosti srednjeg arterijskog pritiska (MAP) i srčane frekvencije u analiziranim vremenskim intervalima, ocenjivani su na osnovu Kruskal-Wallisove analize varijanse. Hematološki i biohemijski parametri su prikazani kao srednja vrednost $\pm$ standardna devijacija ($\pm$ SD). Za izračunavanje upotrebljen je Excel program. Vrednosti serumske koncentracije cTnI dobijene uzorkovanjem u različitim vremenskim intervalima testirane su Friedmanovom analizom varijanse za ponovljena merenja rangiranih podataka. Razlike u visini prosečne vrednosti srednjeg arterijskog pritiska i srčane frekvencije između dve grupe (grupe kod kojih jeste i grupe kod koje nije detektovana promena serumske koncentracije cTnI na početku istraživanja) testirani su primenom Mann-Whitney U testa. Nivo verovatnoće (P) manji ili jednak 0,05 ukazivao je na odbacivanje odgovarajuće nulte hipoteze, tj. postojanje statistički značajne razlike. Za statističku analizu korišćen je statistički program SPSS (Statistical Package for Social Sciences, SAD for Windows ver.22.0).

Originalni podaci koji su dobijeni u ovoj doktorskoj disertaciji izneti su u poglavlju **Rezultati**, a prikazani su tekstualno, tabelarno i grafikonima. Kod pasa iz sve tri grupe prilikom opšteg kliničkog pregleda nisu uočena odstupanja od fizioloških vrednosti trijasa. Hematološki rezultati i rezultati biohemijskih parametara krvi kod pasa iz sve tri grupe su u okviru referentnih vrednosti. Kardiološkim pregledom i auskultacijom srca kod svih pasa je zabeležen sinusni ritam srca. U toku sedacije ili anestezije kod pasa iz sve tri grupe nije ustanovljen AV blok drugog stepena ili prisustvo aritmija.

Statistički značajno povećanje serumske koncentracije cTnI kod pasa **u grupi M** je bilo 6 časova nakon sedacije ($p=0,007$) u odnosu na početnu vrednost i nakon 12 časova ($p=0,002$) u odnosu na početnu vrednost. Serumska koncentracija cTnI se smanjila 4. dan u odnosu na 12 časova, ali ova razlika nije bila statistički značajna ($p>0,05$). U odnosu na početnu vrednost, 4. dana serumska koncentracija cTnI je i dalje statistički značajno bila viša ($p=0,016$). Statistički značajno povećanje serumske koncentracije cTnI kod pasa **u grupi P+S** je bilo 6 časova nakon anestezije ($p=0,035$) u odnosu na početnu vrednost i nakon 12 časova u odnosu na početnu vrednost ($p<0,001$). Serumska koncentracija cTnI se smanjila 4. dan u odnosu na 6 časova, ali ova razlika nije bila statistički značajna ($p>0,05$). Četvrtog dana nakon anestezije serumska koncentracija cTnI se statistički značajno smanjila ($p=0,005$) u odnosu na 12 časova. U odnosu na početnu vrednost 4. dana serumska koncentracija cTnI je i dalje bila viša, ali razlika nije bila statistički značajna ($p>0,05$). Statistički značajno povećanje ($p<0,001$) serumske koncentracije cTnI kod pasa **u grupi M+P+S** je bilo 6 časova nakon anestezije u odnosu na početnu vrednost i nakon 12 časova u odnosu na početnu vrednost ($p<0,001$). Serumska koncentracija cTnI se smanjila 4. dan u odnosu na 12 časova ali ova razlika nije bila statistički značajna ($p>0,05$). U odnosu na početnu vrednost 4. dana serumska koncentracija cTnI je i dalje bila viša, ali razlika nije bila statistički značajna ($p>0,05$).

Poređenjem serumske koncentracije cTnI između grupa na početku nema statistički značajne razlike ($p>0,05$), kao i nakon 6 časova ($p>0,05$). Nakon 12 časova cTnI kod **M grupe** je statistički značajno bio viši od cTnI kod **M+P+S grupe** ($p=0,006$). Srčani troponin I statistički značajno bio je viši ($p=0,022$) nakon 12 časova kod **P+S grupe** u odnosu na **M+P+S grupu**. Nakon 4. dana se može uočiti statistički neznačajna razlika između **grupa M i M+P+S**, gde je je koncentracija cTnI bila viša u **grupi M**, ali je razlika bila na granici statističke značajnosti ($p=0,052$).

Između **grupa M i M+P+S** nema statistički značajne razlike ($p>0,05$) u frekvenci srca ali postoji značajna statistička razlika između **grupa M i P+S** ($p<0,001$) i **grupa P+S i M+P+S** ($p<0,001$). Između **grupa M i M+P+S** nema statistički značajne razlike ($p>0,05$) u srednjem arterijskom pritisku ali postoji značajna statistička razlika između **grupa M i P+S** ($p<0,001$) i **grupa P+S i M+P+S** ($p<0,001$).

U poglavlju **Diskusija** dobijeni rezultati su protumačeni i poređeni sa rezultatima drugih istraživača koji su obrađivali sličnu problematiku.

Poglavlje **Literatura** sadrži 206 bibliografskih jedinica iz strane i domaće literature.

VI ZAKLJUČCI ISTRAŽIVANJA (navesti zaključke koji su prikazani u doktorskoj disertaciji):

1. Sedacija pasa medetomidinom aplikovanim intravenski u dozi od 0,04 mg/kg, u cilju izvođenja ultrazvučnog, odnosno ortopedskog pregleda utiče na značajno povećanje serumske koncentracije cTnI nakon 6, 12 časova i 4. dana.

2. Anestezija pasa propofolom i sevofluranom u cilju izvođenja gastroskopskog pregleda dovodi do značajnog statističkog povećanja serumske koncentracije cTnI nakon 6 i 12 časova pojedinačno, ali nakon 4. dana ovo povećanje nije statistički značajno u odnosu na početnu vrednost.

3. Anestezija pasa medetomidinom, propofolom i sevofluranom u cilju izvođenja gastroskopskog pregleda dovodi do značajnog statističkog povećanja serumske koncentracije cTnI nakon 6 i 12 časova pojedinačno, ali nakon 4. dana ovo povećanje nije statistički značajno u odnosu na početnu vrednost.

4. Poređenjem serumske koncentracije cTnI između grupa ustanovljena je značajno viša serumska koncentracija cTnI kod pasa sediranih medetomidinom koji su udisali vazduh, u odnosu na pse kod kojih je medetomidin aplikovan u jednakoj dozi u premedikaciji, ali su za vreme anestezije propofolom i sevofluranom udisali kiseonik.

VII OCENA NAČINA PRIKAZA I TUMAČENJA REZULTATA ISTRAŽIVANJA (navesti da li su dobijeni rezultati u skladu sa postavljenim ciljem i zadacima istraživanja, kao i da li zaključci proizilaze iz dobijenih rezultata):

Rezultati istraživanja ove doktorske disertacije potpuno su u skladu sa postavljenim ciljevima i zadacima, a zaključci koji proizilaze iz dobijenih rezultata postavljeni su pravilno. Rezultati istraživanja su prikazani tekstualno i dokumentovani sa 11 tabela i 7 grafikona. Tekst je napisan koncizno, jasnim i razumljivim stilom. Rezultati su pravilno i kritički tumačeni.

VIII KONAČNA OCENA DOKTORSKE DISERTACIJE:

1. Da li je disertacija napisana u skladu sa obrazloženjem navedenim u prijavi teme?

Doktorska disertacija je u potpunosti napisana u skladu sa obrazloženjem navedenim u prijavi teme. Primjenjene metode ispitivanja su standardizovane i prilagođene cilju i zadacima disertacije koji su navedeni u prijavi teme.

2. Da li disertacija sadrži sve elemente propisane za završenu doktorsku disertaciju?

Doktorska disertacija sadrži sve bitne elemente i predstavlja originalni naučni rad, čija je tema aktuelna i naučno opravdana.

3. Po čemu je disertacija originalan doprinos nauci?

Doktorska disertacija diplomiranog veterinara Maje Vasiljević, je jedina studija do sada, koja je ispitala uticaj sedacije medetomidinom i anestezije propofolom i sevofluranom sa ili bez premedikacije medetomidinom, na serumsku koncentraciju cTnI, kao indikatora oštećenja miokarda kod pasa kod kojih nije rađena hirurška intervencija. Diplomirani veterinar Maja Vasiljević utvrdila je da sedacija medetomidinom u dozi od 0,04 mg/kg i.v., koja se upotrebljava u svakodnevnoj kliničkoj praksi, i anestezija propofolom i sevofluranom sa ili bez premedikacije medetomidinom, utiču na serumsku koncentraciju cTnI. Povećanje serumske koncentracije cTnI je bilo veće kod pasa sediranih medetomidinom koji su udisali vazduh, u odnosu na pse kod kojih je medetomidin dat u premedikaciji u jednakoj dozi, ali su za vreme anestezije propofolom i sevofluranom udisali kiseonik. Preporuka diplomiranog veterinara Maje Vasiljević je da se svi psi za vreme sedacije medetomidinom obavezno oksigeniraju, da bi se time sprečilo oštećenje miokarda usled hipoksije. Ova doktorska disertacija predstavlja značajan doprinos u istraživanju uticaja medetomidina na srčani troponin I i time doprinosi poboljšanju sigurnosti upotrebe medetomidina u kliničkim protokolima za sedaciju i anesteziju pasa.

1 IX PREDLOG:

2

3 Na osnovu ukupne ocene disertacije, komisija predlaže (odabrati jednu od tri
4 ponuđenih mogućnosti):

5 - da se doktorska disertacija prihvati a kandidatu odobri odbrana

6 -

7 -

8 DATUM

POTPISI ČLANOVA KOMISIJE

9

Prof. dr Vanja Krstić

10

Fakultet veterinarske medicine

11

Univerziteta u Beogradu

12

13

Doc. dr Alenka Seliškar

14

Veterinarska fakulteta

15

Univerze v Ljubljani

16

17

Prof. dr Danijela Kirovski

18

Fakultet veterinarske medicine

19

Univerziteta u Beogradu

20

21

Doc. dr Mirjana Milovanović

22

Fakultet veterinarske medicine

23

Univerziteta u Beogradu

24

25

Dr Sanja Stanković

26

Centar za medicinsku biohemiju

27

Klinički centar Srbije

28

29

30

31