

NAUČNOM VEĆU MEDICINSKOG FAKULTETA
UNIVERZITETA U BEOGRADU

Na sednici Naučnog veća Medicinskog fakulteta u Beogradu, održanoj 28.04. 2016. godine, broj 5940/4 imenovana je komisija za ocenu završene doktorske disertacije pod naslovom:

„Efekat hipervitaminske terapije vitamina B kompleksa na regeneraciju motorne funkcije perifernog nerva na modelu povrede femoralnog nerva pacova“

Kandidata Mr dr Predraga Nedeljkovića, zaposlenog u Institutu za ortopedsko-hirurške bolesti „Banjica“ u Beogradu, kao lekar specijalista plastične i rekonstruktivne hirurgije. Mentor je prof. Dr Marko Bumbaširević.

Komisija za ocenu završene doktorske disertacije imenovana je u sastavu:

1. Prof. Dr Lukas Rasulić, vanredni profesor, Klinike za neurohirurgiju KCS, Medicinskog fakulteta, Univerziteta u Beogradu
2. Doc. Dr Zoran Baščarević, docent, Instituta za ortopedsko-hirurške bolesti „Banjica“, Medicinskog fakulteta, Univerziteta u Beogradu.
3. Prof. Dr Dragana Vučević, redovni profesor, Medicinskog fakulteta Vojnomedicinske akademije u Beogradu.

Na osnovu analize priložene doktorske disertacije, komisija za ocenu završene doktorske disertacije jednoglasno podnosi Naučnom veću Medicinskog fakulteta sledeći

IZVEŠTAJ

A) Prikaz sadržaja doktorske disertacije

Doktorska disertacija mr sc Predraga Nedeljkovića napisana je na 164 strana i podeljena je na sledeća poglavlja: uvod, ciljevi istraživanja, materijal i metode, rezultati, diskusija, zaključci i literatura. U disertaciji se nalazi ukupno 23 grafika, 9 tabela i 33 slike. Doktorska

disertacija sadrži sažetak na srpskom i engleskom jeziku, biografiju kandidata, podatke o komisiji, spisak skraćenica korišćenih u tekstu i priloge.

U **uvodu** je prikazana epidemiologija, incidenca i etiologija povreda perifernih nerava kao i anatomske karakteristike perifernih nerava i njihovih end organa. Detaljno je opisana Valerova degeneracija kao neizbežan proces u degeneraciji perifernog nerva nakon povrede kao i u njegovoj regeneraciji. Prikazana su aktuelna saznanja o inflamatornom odgovoru i medijatorima koji sudeluju u Valerovoj degeneraciji kao i inflamatorni sistemski stres odgovor koji je posledica povrede perifernog nerva i njegove posledične degeneracije. Navedeni su postupci metode koji su neophodni u dijagnostici lezije perifernog nerva, kao i klinički i elektrofiziološki testovi koji su značajni za procenu stepena lezije kao i procenu oporavka perifernog nerva.

Predloženi su terapijski pristupi u lečenju povrede perifernog nerva, kako konzervativni tako i operativni, uključujući indikacije, vreme operativnog lečenja kao i tehnike reparacije. Naznačeni su faktori koji utiču na rezultate reparacije perifernog nerva kao i njihov efekat na regeneraciju i krajnji rezultat lečenja.

Definisano je značaj i uloga vitamina B kompleksa za normalno funkcionisanje nervnog sistema. Istaknuta je široka primena različitih vitamina B kompleksa u terapiji raznih patoloških stanja na nervnom sistemu kao i aktuelna saznanja o metaboličkim mehanizmima i efektima na nivou nervnog sistema kao i kod različitih neuroloških oboljenja i stanja koja su izazvana nedostatkom pojedinih vitamina.

Opisani su različiti akutuelni eksperimentalni modeli povrede perifernog nerva sa akcentom na model povrede femoralnog nerva koji je korišćen tokom eksperimentalnog istraživanja.

Definisana je fenotipska i funkcionalna plastičnost peritonealnih makrofaga i njihove promene indukovane različitim vrstama povreda.

Ciljevi istraživanja su precizno definisani. Sastoje se u ispitivanju ćelijskih mehanizama u regeneraciji i oporavku perifernog nerva nakon povrede i rekonstrukcije kao i uticaju vitamina B kompleksa na navedene procese. Ciljevi doktorske disertacije bili su da se ispita uticaj povrede motorne grane femoralnog nerva i rekonstrukcije na a) električnu aktivnost, funkciju atrofiju ciljnog mišića, b) gustinu ćelijskih jedara u području povređenog perifernog nerva i mišića i c) funkciju peritonealnih makrofaga uključujući metaboličku

vijabilnost, sposobnost fagocitoze, adhezije i produkcije reaktivnih oblika azot oksida. Potom je ispitivan efekat terapije vitaminima B kompleksa na sve navedene procese.

U poglavlju **Materijal i metode** navedeno je da su eksperimenti rađeni na Institutu za medicinska istraživanja Vojnomedicinske akademije. Sve eksperimentalne procedure su bile odobrene od strane Etičkog odbora Vojnomedicinske akademije Univerziteta odbrane u Beogradu i sprovedene u skladu sa etičkim principima i smernicama za brigu o životinjama. Opisan je eksperimentalni model povrede motorne grane femoralnog nerva pacova. Precizno su navedene tehnike povrede i rekonstrukcije nerva. Pojedinačno su navedene tehnike izvođenja EMG dijagnostike i procene mišićne atrofije. Naveden je i opisan test ponašanja korišćen u proceni oporavka motorne funkcije kao i načini određivanja parametra foot-base ugla (Adobe Photoshop CS& program). Navedeni su postupci izolacije makrofaga, metod detekcije metaboličke aktivnosti makrofaga kolorimetrijskom metodom redukcije difenil tetrazilijum bromidne soli (MTT), procene fagocitne sposobnosti makrofaga, test produkcije reaktivnih oblika kiseonika (NBT), test adhezije makrofaga za nećelijski matriks kao i određivanje nivoa NO.

U poglavlju **Rezultati** detaljno su opisani i predstavljeni svi dobijeni rezultati.

Diskusija je napisana jasno i pregledno, uz prikaz podataka drugih istraživanja sa uporednim pregledom dobijenih rezultata doktorske disertacije.

Zaključci sažeto prikazuju najvažnije nalaze koji su proistekli iz rezultata rada.

Korišćena **literatura** sadrži spisak 216 referenci.

B) Kratak opis postignutih rezultata

Ovo istraživanje je pokazalo da neposredno nakon transekcije motorne grane femoralnog nerva pacova dolazi do promena u funkciji ekstremiteta (ispad ekstenzije kolena), strukturalnih promena u povređenom nervu i ciljnom mišiću, promena u električnoj aktivnosti mišića (EMG). Povreda perifernog nerva nakon 7 dana dovodi do smanjenja funkcionalnih karakteristika peritonealnih makrofaga uključujući sposobnost fagocitoze i adhezije u odnosu na lažno operisane životinje. Nakon rekonstrukcije perifernog nerva termino-terminalnom anastomozom tokom vremena (do 120. dana) dolazi do oporavka navedenih funkcija. Primenom vitamina B kompleksa tokom neposrednog postoperativnog perioda (14 dana) došlo je do poboljšanja oporavka funkcije povređenog nerva i ciljnog mišića kao i do značajnih izmenjenih strukturalni promena. Neposredno nakon povrede zapažen je poremećaj

testa hodanja, odn. povećanje foot-base ugla stopala na strani povrede, koje se javlja u obe eksperimentalne grupe sa bržim oporavkom vrednosti ugla kod grupe tretirane vitaminima B kompleksa što je statistički značajno.

EMG vrednosti ciljnog mišića pokazuju smanjenje nakon povrede uz postepen oporavak tokom perioda reinervacije. Statistički značajno bolji oporavak, odn. veće vrednosti EMG su uočene u grupi životinja tretiranih vitaminima B kompleksa.

Stepen atrofije mišića kvadricepsa tokom perioda denervacije je manje izražen kod eksperimentalne grupe tretirane vitaminima B kompleksa kod koje je primećen i brži oporavak mišićne mase tokom perioda reinervacije. Razlike su statistički značajne.

Celularnost nerva kao i mišića raste nakon povrede perifernog nerva. Tokom perioda reinervacije dolazi do pada vrednosti celularnosti u sklopu oporavka. Manje izražena celularnost kako nerva tako i mišića je primećena u eksperimentalnoj grupi tretiranoj vitaminima B kompleksa i ukazuje na manji stepen oštećenja kao i ubranu regeneraciju.

Peritonealni makrofagi izolovani iz životinja sa povredom femoralnog nerva su produkvali smanjenu količinu reaktivnih oblika kiseonika, azot oksida, IL-10 i TNF-alfa u poređenju sa istim iz lažno operisanih životinja. Primenjena terapija vitaminima B kompleksa dovela je do oporavka funkcionalnih karakteristika peritonealnih makrofaga koje su bile smanjene zbog povrede perifernog nerva.

C) Uporedna analiza doktorske disertacije sa rezultatima iz literature

Istraživanje ove doktorske disertacije i njeni rezultati ukazuju da nakon povrede perifernog motornog nerva dolazi do ispada funkcije ciljnog mišića što rezultuje ispadom funkcije određenog ekstremiteta i poremećajem specifičnog testa ponašanja. Saglasno navedenim su rezultati istraživanja drugih autora gde je pokazano značajno povećanje foot-base ugla kod pacova sa lezijom femoralnog nerva (Irintchev et al, 2011). Tretman vitaminima B kompleksa poboljšava oporavak motorne funkcije u značajnoj meri, što se može potvrditi i radovima drugih autora (Fujii et al, 1996).

Nadalje, oporavak EMG aktivnosti u periodu reinervacije je ubrzan i poboljšan kod grupe životinja tretiranih vitaminima B kompleksa. Liao i saradnici su 2010. pokazali da je poboljšan oporavak m. biceps brachii pacova nakon transfera motornog nerva kod životinja tretiranih metilcijanokobalaminom. Takođe, pokazano je da je stepen atrofije ciljnog mišića manji kod navedene terapije.

Porast celularnosti nerva i mišića u neposrednom postoperativnom periodu kao odgovor imunskih, Schwanovih i satelističkih ćelija na traumu je značajan u odnosu na preoperativne vrednosti. Komparabilne rezultate u svojim radovima su pokazali Shea (2014) kao Borisov (2001) sa saradnicima.

Literaturni podaci ukazuju da termička povreda i hirurška rana pune debljine na koži dovode do smanjenja funkcionalnih karakteristika peritonealnih makrofaga. Takođe, postoje i podaci da hirurške inetvencije dovode do smanjenja različitih imunskih funkcija. U skladu sa ovim literaturnim podacima su i naši rezultati koji ukazuju da je povreda nerva dovela do smanjenja funkcionalnih karakteristika makrofaga.

D) Objavljeni radovi koji čine deo doktorske disertacije

Predrag Nedeljkovic, Dragana Zmijanac, Biljana Draskovic-Pavlovic, Milijana Vasiljevska, Dragana Vucevic, Biljana Bozic, Marko Bumbasirevic. Vitamin B complex treatment improves motor nerve regeneration and recovery of muscle function in a rodent model of peripheral nerve injury. Archives of Biological Sciences 2017; 69(1): *in press*

E) Zaključak (obrazloženje naučnog doprinosa)

Doktorska disertacija “Efekat hipervitaminske terapije vitamina B kompleksa na regeneraciju motorne funkcije perifernog nerva na modelu povrede femoralnog nerva pacova“ dr Predraga Nedeljkovića predstavlja originalni naučni doprinos u razumevanju mehanizama koji učestvuju u procesima regeneracije motorne funkcije perifernog nerva nakon povrede i primarne rekonstrukcije kao i uloge vitamin B kompleksa u njima. Ovim istraživanjem rasvetljeni su izvesni mehanizmi u procesu nervne degeneracije u neposrednom postoperativnom period kao i procesi tokom regeneracije nerva i reinervacije mišića. Takođe, ovim istraživanjima je pokazan efekat povrede femoralnog nerva i na funkcionalne karakteristike peritonealnih makrofaga. Navedeni rezultati ove doktorske teze potkrepljuju pretpostavku da vitamini B kompleksa ispoljavaju pozitivne efekte na oporavak motorne funkcije perifernog nerva što se ogleda u poboljšanom oporavku mase mišića, EMG vrednosti, poboljšanom funkcionalnom oporavku, kao i normalizaciji funkcija peritonealnih makrofaga. Rezultati ove doktorske disertacije bi mogli da pomognu u razumevanju mehanizama ranog oporavka motorne funkcije perifernog nerva kao i da ukažu da pozitivne efekte hipervitaminske terapije vitaminima B kompleksa na navedene procese.

Ova doktorska disertacija je urađena prema svim principima naučnog istraživanja. Ciljevi su jasno i precizno definisani, naučni pristup je originalan i pažljivo odabran, a metodologija rada je savremena. Rezultati su pregledno i sistematično prikazani i diskutovani, a iz njih su izvedeni odgovarajući zaključci.

Na osnovu svega navedenog, i imajući u vidu dosadašnji naučni rad kandidata, Komisija predlaže Naučnom veću Medicinskog fakulteta Univerziteta u Beogradu da prihvati napisanu doktorsku disertaciju dr Predraga Nedeljkovića pod nazivom „Efekat hipervitaminske terapije vitamina B kompleksa na regeneraciju motorne funkcije perifernog nerva na modelu povrede femoralnog nerva pacova“ i odobri njenu javnu odbranu radi sticanja akademske titule doktora medicinskih nauka.

U Beogradu 12. 05. 2016.

Članovi Komisije:

Mentor:

Prof. dr Lukas Rasulić

Prof. dr Marko Bumbaširević

Prof. dr Zoran Baščarević

Prof. dr Dragana Vučević