

**NASTAVNO-NAUČNOM VEĆU FARMACEUTSKOG FAKULTETA  
UNIVERZITETA U BEOGRADU**

**KOMISIJI ZA POSLEDIPLOMSKE STUDIJE**

Na sednici Nastavno-naučnog veća Farmaceutskog fakulteta u Beogradu, održanoj 11.5.2017. godine, imenovani su članovi Komisije za ocenu i odbranu završene doktorske disertacije kandidata diplomiranog farmaceuta Bojana A. Batinića, pod naslovom:

**Uticaj modulacije GABA<sub>A</sub> receptora koji sadrže  $\alpha 5$  podjedinicu na promene ponašanja pacova prenatalno izloženih dejstvu lipopolisaharida**

Komisija u sastavu

**1. Dr Miroslav Savić, redovni profesor, mentor, predsednik komisije**

Univerzitet u Beogradu – Farmaceutski fakultet

**2. Dr Nenad Ugrešić, redovni profesor u penziji**

Univerzitet u Beogradu – Farmaceutski fakultet

**3. Dr Dubravko Bokonjić, redovni profesor u penziji**

Univerzitet odbrane u Beogradu – Medicinski fakultet Vojnomedicinske akademije

**4. Dr Bosiljka Plećaš, redovni profesor**

Univerzitet u Beogradu – Farmaceutski fakultet

pregledala je priloženu disertaciju i podnosi Nastavno-naučnom veću Farmaceutskog fakulteta Univerziteta u Beogradu sledeći

## IZVEŠTAJ

### A. PRIKAZ SADRŽAJA DOKTORSKE DISERTACIJE

Doktorska disertacija pod nazivom: "**Uticaj modulacije GABA<sub>A</sub> receptora koji sadrže  $\alpha 5$  podjedinicu na promene ponašanja pacova prenatalno izloženih dejstvu lipopolisaharida**", sadrži sedam poglavlja: Uvod, Cilj istraživanja, Materijali i metode, Rezultati, Diskusija, Zaključak i Literatura. Na početku rada je priložen Sažetak/Abstract, dok se na kraju rada nalazi spisak publikovanih/saopštenih radova koji čine deo doktorske disertacije, kratka biografija kandidata i potpisane izjave kandidata o autorstvu, istovetnosti štampane i elektronske verzije i korišćenju doktorske disertacije (obavezni Prilozi 1, 2 i 3).

Disertacija je napisana na 100 strana i sadrži 29 slika (4 u uvodu, 2 u materijalima i metodama i 23 u rezultatima), 9 tabela (2 u uvodu, 6 u rezultatima i 1 u diskusiji). Pregled literature sadrži 146 navoda.

**UVOD** se sastoji iz deset delova. Svaki od njih sadrži informacije relevantne za sve segmente istraživanja koji su obuhvaćeni ovom doktorskom disertacijom. U prvom delu Uvoda kandidat je izdvojio najznačajnije epidemiološke studije koje su povezale prenatalno izlaganje efektima imune aktivacije izazvane virusnim, bakterijskim ili parazitskim infekcijama sa povećanim rizikom od razvoja pojedinih psihijatrijskih i neuroloških oboljenja, među kojima i shizofrenije, a dodatno su sagledani i dizajn i pouzdanost ovih studija.

U drugom delu Uvoda analizirana je potreba za uvođenjem prekliničkih modela neurorazvojnih poremećaja i objašnjena njihova validacija. Dat je pregled najčešće korišćenih imunogena u protokolima prenatalne imune aktivacije u zavisnosti od tipa infekcije koja se modeluje. U nastavku je sagledana raznovrsnost protokola prenatalne primene lipopolisaharida (LPS) kao imunogena koji je korišćen u modelu u kome su vršena tekuća istraživanja.

U trećem delu Uvoda iznete su osnovne informacije o LPS-u kao komponenti ćelijskog zida gram-negativnih bakterija, i analizirana njegova molekulska struktura sa osvrtom na raznovrsnost O-antigena koja predstavlja osnovu klasifikacije različitih serotipova koji se koriste u protokolima prenatalne primene LPS-a. Dodatno, objašnjen je mehanizam pokretanja imunog odgovora u prisustvu LPS-a. Na kraju, nabrojani su poremećaji za koje se smatra da se mogu modelovati prenatalnom ili postnatalnom primenom LPS-a, sa posebnim osvrtom na odabir puta primene koji doprinosi specifičnosti imunog odgovara.

Četvrti deo Uvoda predstavlja pregled protokola prenatalne primene LPS-a, u okviru kojeg su sagledane imunološke posledice primene LPS-a na organizam gravidne ženke glodara i njene fetuse. U svetlu validacije ovih modela, ukazano je na sličnost između bihejvioralnih promena opaženih u ovim modelima i simptoma karakterističnih za shizofreniju.

U petom delu Uvoda objašnjena je uloga GABA-e kao glavnog inhibitornog neurotransmitera u postnatalnom životu, kao i građa i mehanizmi aktivacije GABA<sub>A</sub>

receptora i mogućnosti modulacije različitim ligandima, među kojima su najznačajniji benzodiazepini. U nastavu je dat kratak pregled lokalizacije i uloge pojedinih podtipova GABA<sub>A</sub> receptora u centralnom nervnom sistemu (CNS).

U šestom delu Uvoda napomenute su specifičnosti lokalizacije i uloge GABA<sub>A</sub> receptora koji sadrže  $\alpha 5$  podjedinicu ( $\alpha 5$ GABA<sub>A</sub> receptori), s osvrtom na heterogenost bihejviralnih efekata izazvanih *in vivo* modulacijom funkcije ovih receptora primenom liganada selektivnih za ove receptore.

Sedmi deo Uvoda posvećen je nalazima vezanim za razvoj GABA-ergičkog sistema, i to naročito onim koji se tiču prvobitne ekspresije  $\alpha 5$ GABA<sub>A</sub> receptora u mozgu fetusa, a razmatran je i značaj ekscitatorne prirode GABA-ergičke neurotransmisije u prenatalnom mozgu. Dodatno, kritični trenuci prenatalnog razvoja mozga fetusa analizirani su iz ugla primene LPS-a. Opisan je i razvoj GABA-ergičkog sistema u prvim postnatalnim nedeljama, sa akcentom na promene u ekspresiji i funkciji  $\alpha 5$ GABA<sub>A</sub> receptora, koje su ključne za pravilno formiranje i uspostavljanje funkcija nervnog sistema, a pre svega hipokampusa kao regiona u kome su  $\alpha 5$ GABA<sub>A</sub> receptori najviše i zastupljeni.

U osmom delu Uvoda dat je pregled izveštaja o do sada zabeleženim poremećajima GABA-ergičkog sistema u shizofreniji i bihejvioralnim abnormalnostima koje nastaju kao posledica prenatalne primene LPS-a u odgovarajućim modelima, što omogućava konstruktivnu validaciju animalnog modela.

U devetom delu Uvoda objašnjen je mehanizam dejstva amfetamina i dizocilpina (MK-801), kao psihostimulanasa koji se koriste u bihejvioralnom testiranju sa ciljem da kod ispitivanih životinja izazovu ponašanje koje se može porediti sa pozitivnim i/ili negativnim simptomima shizofrenije.

U desetom, poslednjem delu Uvoda predstavljena su bitna svojstva MP-III-022, pozitivnog alosternog modulatora (PAM) GABA<sub>A</sub> receptora, liganda selektivne efikasnosti i afiniteta za  $\alpha 5$ GABA<sub>A</sub> receptore. Opisani su bihejvioralni efekti ovog liganda, kao i procena njegove raspoloživosti u mozgu pacova nakon primene različitih doza. Predstavljena je i aproksimacija stepena potencijacije koji ostvaruje slobodna frakcija ovog PAM-a u mozgu pacova *in vivo*.

Prvi **CILJ ISTRAŽIVANJA** bilo je uspostavljanje i karakterizacija modela prenatalne inflamacije, što je obuhvatilo: opis imunoloških zbivanja nakon primene LPS-a gravidnim ženkama pacova *Wistar* soja 15. i 16. dana gestacije; određivanje statusa citokina kod odraslih potomaka; nalaze promena u neurotransmisiji u mozgovima fetusa i kod odraslih potomaka; i na kraju opis bihejvioralnih promena kod odraslih potomaka.

Drugi cilj je bio da se, nakon karakterizacije modela, ispita uticaj preventivne modulacije GABA-ergičke transmisije u periodu preadolescencije kod potomaka oba pola prenatalno izloženih efektima lipopolisaharida, na promene u njihovom ponašanju u periodu rane odraslosti.

Ciljivi su ostvareni kroz četiri faze ispitivanja. U prvoj fazi dodatno su rasvetljena imunološka zbivanja u organizmu gravidnih ženki, fetusima i kod odraslih potomaka praćenjem koncentracije proinflamatornih citokina TNF- $\alpha$  i IL-6 u krvi ženke, placenti, amnionskoj tečnosti i mozgu fetusa, kao i krvi i mozgu odraslih potomaka, radi ispitivanja prirode, intenziteta i trajanja procesa imune aktivacije. Određene su koncentracije ključnih

neurotransmitera (GABA-e, glutamata, dopamina, acetilholina, noradrenalina i serotonina) u mozgu fetusa nakon pokretanja imunog odgovora primenom LPS-a, što predstavlja novi nalaz u ovoj oblasti istraživanja. U drugoj fazi ispitivane su promene u ponašanju potomaka u periodu njihove adolescencije (40. postnatalni dan) i rane odraslosti (60. postnatalni dan), u testovima spontane i amfetaminom indukovane lokomotorne aktivnosti, zatim testovima anksioznosti (uzdignuti plus lavirint i test otvorenog polja), socijalne interakcije i prostorne memorije (Morisov vodeni lavirint). U trećoj fazi određene su ukupne i slobodne koncentracije MP-III-022, liganda selektivnog za  $\alpha_5$  podtip GABA<sub>A</sub> receptora, u mozgu mladih pacova, u periodu njihove ponavljane primene (od 22. do 28. postnatalnog dana). U četvrtoj fazi ispitivani su efekti modulacije  $\alpha_5$ GABA<sub>A</sub> receptora ponavljanom primenom MP-III-022, na promene u ponašanju potomaka opažene u nizu testova korišćenih za bihevioralnu karakterizaciju u drugoj fazi, a određene su i koncentracije ključnih neurotransmitera u bitnim strukturama mozga odraslih pacova (prefrontalni korteks, ventralni hipokampus, nukleus akumbens i dorzalni strijatum).

**MATERIJALI I METODE** - U ovom poglavlju prikazani su podaci o eksperimentalnim životinjama i korišćenim supstancama, a detaljno su opisani i protokoli analitičkih i bihevioralnih eksperimentalnih procedura.

Na početku su opisane procedure čuvanja i sparivanja životinja u cilju praćenja gestacionog perioda i određivanja vremena primene LPS-a, zatim sama procedura primene LPS-a, kao i postupanje sa mladuncima nakon okota gravidnih ženki. Dalje, opisane su procedure prikupljanja uzoraka tkiva za analizu citokinskog odgovora, kao i sam postupak kvantifikacije citokina koji je vršen ELISA (eng. *enzyme-linked immunosorbent assay*) metodom. Detaljno je opisana i procedura kvantifikacije ključnih neurotransmitera u mozgu fetusa i moždanim strukturama od interesa kod odraslih pacova.

U posebnom delu Materijala i metoda objašnjene su procedure analize moždanog tkiva mladunaca pacova korišćenjem tačne hromatografije ultravisokih performansi uparene sa tandem masenim spektrometrom, tokom ponavljane primene MP-III-022 u kinetičkoj studiji koja je dizajnirana da pomogne u određivanju doze MP-III-022 za primenu u glavnom eksperimentu.

U tekstu protokola bihevioralnih eksperimenata detaljno su opisane korišćene aparature i postupak praćenja ponašanja životinja uz pomoć specijalizovanog ANYmaze softvera, i to u testovima lokomotorne aktivnosti, uzdignutom plus lavirintu, testu otvorenog polja, Morisovom vodenom lavirintu i testu socijalne interakcije. Obrazložene su specifičnosti protokola za praćenje spontane i indukovane lokomotorne aktivnosti, koji su dizajnirani tako da se efekti tretmana mogu sagledati odvojeno od efekata same primene tretmana.

Dodatno, precizno je iznet vremenski tok analitičkih i bihevioralnih eksperimenata. Na kraju, opisani su statistički testovi koji su korišćeni u analizi rezultata pomenutih eksperimenata i navedeni programi u kojima je vršena obrada rezultata (SigmaPlot i SPSS Statistics 20).

**REZULTATI** – prikazani su na 31 stranici teksta, kroz 23 slike i 6 tabela i prate prethodno opisan vremenski tok eksperimenta.

Kroz **DISKUSIJU** kandidat je na sveobuhvatan i razumljiv način izneo svoja tumačenja rezultata i detaljno poredio dobijene rezultate sa onim koji su već publikovani u

relevantnoj literaturi. U diskusiji je velika pažnja posvećena specifičnostima analiziranih protokola primene imunogena, kao i bihevioralnih protokola, a sve to u cilju sagledavanja i poređenja rezultata koji su proistekli iz srodnih, ali bitno različitih modela.

U poglavlju **ZAKLJUČCI** navedeni su najznačajniji zaključci koji su u skladu sa dobijenim rezultatima i navedenim ciljevima istraživanja.

U poglavlju **REFERENCE** navedeno je 146 referenci citiranih harvardskim stilom.

## **B. OPIS POSTIGNUTIH REZULTATA**

Rezultati ove doktorske disertacije predstavljeni su u okviru tri celine koje prate vremensku podelu istraživanja na tri eksperimentalna seta.

U prvom eksperimentalnom setu predstavljena su inicijalna ispitivanja koja su izvedena na relativno malom broju životinja, bez uzimanja u obzir efekta legla, te su pojedine eksperimentalne grupe činili mladunci poreklom od samo dve majke. Ispitivanja spontane lokomotorne aktivnosti u ovom setu dala su kontradiktorne rezultate, od povećanja pređenog puta pod uticajem prenatalne primene LPS-a, preko rezultata u kojima nije bilo razlike između LPS i kontrolnih životinja, do smanjenja lokomotorne aktivnosti pod uticajem prenatalne primene LPS-a. Nezavisno od ovih kontradiktornosti koje su bile uzrokovane efektom legla, utvrđeno je da akutna primena MK-801 kod adolescentnih i mladih adultnih pacova nije dovela do ispoljavanja razlika između LPS i kontrolnih životinja.

U drugom setu eksperimenata utvrđeno je da intraperitonealna primena LPS-a (100 µg/kg) 15. dana gestacije ženka pacova *Wistar* soja dovodi do indukcije proinflamatornih citokina TNF-α i IL-6 u krvi ženke, dok je porast koncentracije TNF-α zabeležen i u placentalnom tkivu; IL-6 je porastao u amnionskoj tečnosti. Na žalost, određivanje IL-6 nije uspelo u čvrstim tkivima (mozgu fetusa i placenti). U mozgovima fetusa koji su bili izloženi efektima primene LPS-a registrovan je značajan porast koncentracije GABA-e i prateće sniženje koncentracije glutamata, 6 h nakon primene LPS-a. Nivoi neurotransmitera u mozgu fetusa nakon izazivanja imunog odgovora nisu do sada ispitivani u srodnim studijama, i ovaj poremećaj GABA-ergičke transmisije predstavlja prvi publikovani nalaz među studijama koje su zasnovane na sličnim modelima prenatalne inflamacije. U ovom setu eksperimenta, bihevioralnoj karakterizaciji modela pristupilo se uzimajući u obzir efekat legla iz kojeg potiču ispitivani mladunci, što je dovelo do pouzdanijih nalaza koji opisuju razlike u ponašanju životinja koje su prenatalno tretirane LPS-om i kontrolnih životinja. U testu spontane lokomocije uočeno je da prenatalna primena LPS-a dovodi do značajnog deficita u spontanoj i amfetaminom indukovanoj lokomotornoj aktivnosti kod ženki starosti 60 dana, dok kod mužjaka ovaj deficit nije bio značajan iako su postojale naznake istog efekta LPS-a. Dodatno je primećeno da se ove razlike između LPS i kontrolnih životinja nisu razvile ranije, odnosno, kod pacova oba pola, starosti 40 dana, ove razlike nisu postojale. U testu prostorne memorije (Morisov vodeni lavirint) pronađeno je da prenatalna primena LPS-a oštećuje proceduralnu i deklarativnu komponentu memorije kod mužjaka starosti 60 dana, dok slične promene nisu uočene kod ženskih potomaka. Polno specifične promene u ponašanju uočene su i u uzdignutom plus lavirintu u kome je prenatalna primena LPS-a dovela do povećanja anksioznosti kod mužjaka starosti 60 dana. U testu otvorenog polja nisu viđene promene u nivou anksioznosti, ali su kod ženki starosti 60 dana uočene naznake lokomotornog deficita primećene ranije u testu spontane lokomocije. U testu socijalne interakcije nije bilo razlika u između LPS i kontrolnih životinja oba pola starosti 40 ili 60 dana.

U trećem setu eksperimenata, ponavljana potencijacija  $\alpha 5\text{GABA}_A$  receptora u preadolescentnom periodu pacova, od 22. do 28. postnatalnog dana, prevenirala je razvoj deficita u lokomotornom odgovoru na amfetamin kod LPS ženki starosti 60 dana. S druge strane, u ovom setu eksperimenata, kod LPS mužjaka starosti 60 dana nisu uočene značajne razlike u bazalnoj anksioznosti niti prostornoj memoriji u odnosu na kontrolne životinje, pa se stoga ni potencijalni efekat primene MP-III-022 nije mogao tumačiti. Izostanak ovih razlika koje su bile opisane u drugom setu eksperimenata može se tumačiti uticajem ponavljene administracije tretmana u preadolescenciji, koja je sa sobom nosila određenu dozu stresa, ili pak dugim trajanje ovog eksperimentalnog seta, usled velikog broja životinja koje su testirane u njemu. U analizi neurotransmitera u mozgu LPS mužjaka starosti 60 dana u našem eksperimentu primećen je značajan porast koncentracije glutamata u ventralnom hipokampusu i acetilholina u dorzalnom strijatumu, dok je kod ženki tretiranih ligandom MP-III-022 opaženo značajno smanjenje koncentracije acetilholina u ventralnom hipokampusu.

### C. UPOREDNA ANALIZA REZULTATA SA PODACIMA IZ LITERATURE

Prilikom postavljanja animalnog modela korišćenog u istraživanjima iz kojih je proistekla ova disertacija, a koji je zasnovan na protokolu primene LPS-a identičnom ili veoma sličnom protokolima korišćenim u nekoliko drugih studija (Fortier i sar., 2007; Harvey i Boksa, 2014a i 2014b; Wischhof i sar., 2015a i 2015b), prvi put su praćena imunološka zbivanja nakon primene druge doze LPS-a, koja se često primenjuje u sličnim protokolima. Pokazano je da ponovljena administracija LPS-a ne dovodi do reaktivacije imunog odgovora. Neuroinflamacija u mozgu fetusa posredovana analiziranim citokinima nije direktno potvrđena, ali ovakav rezultat nije iznenađujući ako se ima u vidu da je indukcija citokina u moždanom tkivu fetusa zabeležena samo u studijama koje su koristile protokole primene više doze LPS-a (Oskvig i sar., 2012). Iako je nakon primene veće doze LPS-a indirektnim nalazom o nivou ključnog enzima sugerisano da se koncentracija GABA-e u mozgu fetusa smanjuje nakon primene LPS-a (Oskvig i sar., 2012), istraživanja koja su prezentovana u ovoj tezi donese izveštaj o direktno izmerenom akutnom porastu koncentracije ovog ključnog neurotransmitera, što predstavlja prvi ovakav nalaz u studijama zasnovanim na modelu prenatalne primene LPS-a.

Pri diskutovanju rezultata bihevioranih testova koji su sprovedeni u cilju karakterizacije odabranog modela prenatalne primene LPS-a, ukazano je na neophodnost sagledavanja razlika među protokolima primene LPS-a i bihevioralnim protokolima u srodnim studijama. Tako je primećeno da se opaženi deficit u lokomotornoj aktivnosti kod odraslih pacova starosti 60 dana slaže sa rezultatima iz studija u kojima je nešto niža doza LPS-a primenjena gravidnim ženkama *Sprague-Dawley* pacova u istim danima gestacije (Harvey i Boksa, 2014a, 2014b). S druge strane, na prvi pogled kontradiktorni rezultati studija koje su koristile identični protokol primene LPS-a, nisu se mogli porediti sa dobijenim rezultatima, s obzirom na to da se apsolutne vrednosti koje su autori izneli ne nalaze u okvirima očekivanim u datim eksperimentalnim postavkama (Wischhof i sar., 2015a i 2015b). Pouzdanost rezultata u prezentovanim nalazima podržana je od ranije poznatim podacima o izraženijem lokomotornom odgovoru na amfetamin kod ženki starosti 60 dana u odnosu na odgovor adolescentnih ženki (Mathews i McCormick, 2007), kao i izveštajem da je lokomotorni odgovor na istu dozu amfetamina jači kod ženki nego kod mužjaka iste starosti (Simpson i sar., 2012). Što se tiče rezultata u drugom setu eksperimenata u MVL-u, primećen je deficit u akviziciji (učenju) i pozivanju memorije kod mladih adultnih mužjaka prenatalno izloženih efektima primene LPS-a, pri čemu su bile oštećene i deklarativna i proceduralna komponenta memorije, a ovi nalazi su konzistentni sa oštećenjima prostorne memorije prijavljenim kod

mužjaka pacova koji su bili izloženi efektima primene više doze LPS-a u kasnoj gestaciji (Lante i sar., 2007 i 2008; Yin i sar., 2013). Nedostatak razlika u socijalnoj interakciji između životinja prenatalno izloženih efektima primene LPS-a i kontrolnih životinja istog pola i starosti diskutovan je u sklopu širokog spektra nalaza iz studija koje sugerišu asocijalnost (Kirsten i sar., 2010; Taylor i sar., 2012), nepromenjeno ponašanje (Kirsten i sar., 2012; Foley i sar., 2014) ili povećanje socijalne interakcije (Harvey i Boksa, 2014a). Rezultati testiranja u UPL-u, kao robusnom testu anksioznosti, upućuju na povećanu anksioznost kod adultnih LPS mužjaka, ali se nalazi iz ove disertacije usled nedostataka u već publikovanim studijama (Wishhof i sar., 2015a) nisu mogli direktno porediti.

Uočene razlike među polovima u efektima potencijacije  $\alpha 5\text{GABA}_A$  receptora primenom MP-III-022 predstavljaju dodatni originalan nalaz, ali treba primetiti da je do sada opisan veliki broj razlika u bihevioralnim i elektrofiziološkim parametrima vezanim za funkciju hipokampusa (Monfort i sar., 2015). U vezi sa ovim nalazom, zabeleženo je i da su  $\text{GABA}_A$  receptori u okolnostima perzistentne neuroinflamacije manje aktivni kod ženki (Tonsfeldt i sar., 2016), što može objasniti intenzivnije posledice pozitivne modulacije  $\alpha 5\text{GABA}_A$  receptora kod ženki u rezultatima prezentovanim u ovoj disertaciji. Polno specifične bihevioralne efekte ostvario je i jednokratni kao i ponavljani tretman ligandom relativno selektivnim za  $\alpha 5\text{GABA}_A$  receptore i strukturno sličnim ligandu MP-III-022, i to kod ženki, ali ne i mužjaka miševa koji su bili izloženi blagom nepredvidljivom hroničnom stresu (Piantadosi i sar., 2016).

Zaključno, diskusija rezultata ove doktorske disertacije zasnovana je na pregledu raznovrsnih referenci i na detaljnoj analizi relevantnih metoda i prezentovanih nalaza, čijim je uporednim tumačenjem skrenuta pažnja na: (i) značaj sagledavanja specifičnosti protokola sa prenatalnom primenom imunogena u cilju postizanja replikabilnosti i reproducibilnosti u bihevioralnim eksperimentima na potomcima; (ii) razlike koje se među polovima mogu javiti u manifestaciji bihevioralnih abnormalnosti nastalih usled prenatalne izloženosti imunoj aktivaciji, ili u efektima farmakološke modulacije GABA-ergičkog sistema; (iii) mogućnosti ranog preveniranja bihevioralnih abnormalnosti koje su posledica promena u razvoju nervnog sistema kod potomaka prenatalno izloženih efektima imune aktivacije.

#### **D. OBJAVLJENI REZULTATI KOJI ČINE DEO DISERTACIJE**

Rezultati dobijeni u okviru ove doktorske disertacije do sada su objavljeni u vidu dva rada u časopisima koji su na SCI listi (kategorije M22), kao i u obliku većeg broja saopštenja na međunarodnim i domaćim naučnim skupovima štampanih u izvodu. Podaci o publikovanim radovima dati su u nastavku:

- 1) Batinić B, Santrač A, Divović B, Timić T, Stanković T, Obradović ALj, Joksimović S, Savić MM. Lipopolysaccharide exposure during late embryogenesis results in diminished locomotor activity and amphetamine response in females and spatial cognition impairment in males in adult, but not adolescent rat offspring. *Behav Brain Res.* 2016; 299: 72-80. doi: 10.1016/j.bbr.2015.11.025.
- 2) Batinić B, Santrač A, Jančić I, Li G, Vidojević A, Marković B, Cook JM, Savić MM. Positive modulation of  $\alpha 5$  GABA(A) receptors in preadolescence prevents reduced locomotor response to amphetamine in adult female but not male rats prenatally exposed to lipopolysaccharide. *Int J Dev Neurosci.* 2017; 61: 31-39. doi: 10.1016/j.ijdevneu.2017.06.001.

## E. ZAKLJUČAK - OBRAZLOŽENJE NAUČNOG DOPRINOSA DISERTACIJE

Rezultati ove doktorske disertacije donose nova ili dopunjena saznanja o prekliničkom animalnom modelu prenatalne inflamacije postignute primenom umerene doze LPS-a 15. i 16. dana gestacije kod pacova. Dodatno, rezultati ove disertacije ukazuju na to da neke od posledica promena u razvoju nervnog sistema kod potomaka ženki tretiranih LPS-om po ovom protokolu, koje se manifestuju u ranoj odraslosti, mogu biti prevenirane odgovarajućom farmakološkom intervencijom u periodu preadolescencije.

Ispitivanja neurotransmisije u fetusnom mozgu potvrdila su da primena LPS-a u cilju izazivanja prenatalne inflamacije dovodi do akutnog poremećaja GABA-ergičke transmisije, što predstavlja originalni nalaz koji nanovo potvrđuje koncept da značajne promene u ponašanju koje se manifestuju kod potomaka u periodu odraslosti mogu u osnovi imati suptilne i kratkotrajne poremećaje u razvoju nervnog sistema koji se dešavaju prenatalno, naročito tokom aktivacije imunog sistema. Dodatno, bihevioralna ispitivanja su potvrdila da neke od promena izazvane prenatalnom primenom LPS-a i posledičnom inflamacijom mogu biti polno specifične, ali i da kod bihevioralnih abnormalnosti zajedničkih za potomke oba pola preventivni farmakološki tretman može imati polno zavistan ishod. Tako je u ovoj disertaciji potencijacija  $\alpha 5$ GABA<sub>A</sub> receptora u periodu preadolescencije, sprovedena ponavljanom primenom farmakokinetički optimizovane doze liganda MP-III-022 koja je obezbedila selektivnost dejstva na ovim receptorima, prevenirala pojavu deficita u lokomotornom odgovoru na amfetamin kod ženki prenatalno izloženih efektima primene LPS-a.

Klinički značaj sprovedenih istraživanja ogleda se u ukazivanju na mogućnost da se podesnom modulacijom GABA-ergičke neurotransmisije u kritičnom periodu koji prethodi pojavi prvih simptoma neurorazvojnog poremećaja, kakav je shizofrenija, obezbedi sprečavanje ili ublažavanje promena u ponašanju koje umanjuju kvalitet života pacijenata.



## F. PREDLOG KOMISIJE ZA OCENU ZAVRŠENE DOKTORSKE DISERTACIJE

Doktorska disertacija pod nazivom "**Uticaj modulacije GABA<sub>A</sub> receptora koji sadrže  $\alpha 5$  podjedinicu na promene ponašanja pacova prenatalno izloženih dejstvu lipopolisaharida**", kandidata dipl. farm. Bojana A. Batinića, po svom sadržaju i obliku, dobro napisanom opštem, uvodnom delu, jasno postavljenim istraživačkim ciljevima, zadovoljavajuće osmišljenoj metodologiji, precizno iznetim rezultatima rada, razložnoj diskusiji i dobro formulisanim zaključcima, ispunjava sve kriterijume adekvatno napisanog naučnog dela.

Komisija sa zadovoljstvom predlaže Nastavno-naučnom veću Farmaceutskog fakulteta u Beogradu da prihvati pozitivan izveštaj o izrađenoj doktorskoj disertaciji pod nazivom "**Uticaj modulacije GABA<sub>A</sub> receptora koji sadrže  $\alpha 5$  podjedinicu na promene ponašanja pacova prenatalno izloženih dejstvu lipopolisaharida**" i kandidatu dipl. farm. Bojanu A. Batiniću odobri javnu odbranu doktorske disertacije po dobijanju saglasnosti Veća naučnih oblasti medicinskih nauka Univerziteta u Beogradu.

Beograd, 07.07.2017.

### Članovi Komisije

---

Dr Miroslav Savić, redovni profesor – mentor,  
predsednik komisije  
Univerzitet u Beogradu - Farmaceutski fakultet

---

Dr Nenad Ugrešić, redovni profesor u penziji  
Univerzitet u Beogradu – Farmaceutski fakultet

---

Dr Dubravko Bokonjić, redovni profesor u penziji  
Univerzitet odbrane u Beogradu,  
Medicinski fakultet Vojnomedicinske akademije

---

Dr Bosiljka Plećaš, redovni profesor  
Univerzitet u Beogradu – Farmaceutski fakultet