

**УНИВЕРЗИТ У КРАГУЈЕВЦУ  
МЕДИЦИНСКИ ФАКУЛТЕТ  
КРАГУЈЕВАЦ**

**1. Одлука Изборног већа**

Одлуком Изборног већа Медицинског факултета Универзитета у Крагујевцу, од 23.06.2010 године именовани су чланови Комисије за оцену научне заснованости теме докторске дисертације др вет.мед.спец. Марковић Мирослава, под називом :

**„Утицај натријум бикарбоната и стандардних антидота на ацидо-базни статус пацова акутно трованих малатионом“**

Чланови комисије су :

1. Проф.Др Драган Миловановић , председник и потенцијални ментор, ванредни професор Медицинског факултета Универзитета у Крагујевцу за ужу научну област Фармакологија и токсикологија
2. Проф.Др Слободан Јанковић, члан, редовни професор Медицинског Факултета Универзитета у Крагујевцу за уже научне области Фармакологија и токсикологија и Клиничка фармација
3. Проф. Др Дубравко Бокоњић, члан, редовни професор Војномедицинске академије у Београду за ужу научну област Фармакологија и токсикологија

подноси Изборном већу следећи

**2. ИЗВЕШТАЈ**

**2.1. Кратка биографија кандидата**

Кандидат др вет.мед.спец. Марковић Мирослав, испуњава све услове предвиђене Закон о Универзитету ( члан 57) и статутом Медицинског факултета ( члан 122) за израду докторске дисертације.

**А. Лични подаци**

Кандидат др вет.мед.спец. Марковић Мирослав, рођен је 15.01.1969 год. у Тополи, у Младеновцу је завршио основну школу и гимназију са одличним успехом. Факултет ветеринарске медицине у Београду уписао је 1987 год и на истом дипломирао 2003 год. са просечном оценом 8,35.Школске 2004/2006 као војни стипендиста завршио постдипломске -специјалистичке студије на истом факултету и то на специјалистичком смеру „Хигијена и технологија млека и млечних производа“ са просечном оценом 9,88.

Активно војно лице у чину мајора, после педагошког рада као наставник у цивилству и као наставник у ШРО Ветеринарске и Санитетске службе Војске Србије и Министарства Одбране , прелази 2005 године на место истраживача у Одељење за експерименталну токсикологију и фармакологију, Института за токсикологију и фармакологију, Националног центра за контролу тровања ВМА и после вишегодишњег научно-истраживачког рада у наведеном одељењу бива постављен 2007 године и за Начелника Одсека за фармакологију

Одељења за експерименталну токсикологију и фармакологију ВМА Београд, где се и сада налази на својим радним дужностима и задацима. 18.12.2006. године уписује Докторске академске студије на Медицинском факултету у Крагујевцу, на Докторском академском смеру „Експериментална и клиничка фармакологија“, положио усмени докторантски испит дана 20.03.2008 године са оценом 9 (девет).

### **Б. Научно истраживачки рад**

Континуирани научно истраживачки рад др вет.мед.спец. Марковић Мирослава огледа се у учешћу у истраживањима и публикавању радова у домаћим и међународним часописима.

### **В. Списак радова**

Кандидат, Мирослав Марковић, објавио је укупно 4 рада, све као први аутор, од чега 2 рада у часописима са рецензијом, чиме је испунио услов за пријаву докторске дисертације.

В-1. Рад у међународном часопису:

1. Markovic M, Bokonjic D, Vucinic S, Boskovic B, Rezic T. Assessment of therapy efficiency by sodium bicarbonate in treating organic phosphorus insecticides poisonings, Veterinary Journal of Republic of Srpska, 2010;01: 42-54. (није на листи МНО)

## **2.2. Наслов, предмет и хипотезе докторске тезе**

**Наслов :** „Утицај натријум бикарбоната и стандардних антидота на ацидо-базни статус пацова акутно трованих малатионом“.

### **Предмет :**

Одредити токсикокинетске параметре метаболизма малатиона и његових активних метаболита у артеријској крви пацова

Одредити гасне параметре артеријске крви пацова:

- рН вредности
- парцијални притисак кисеоника
- парцијални притисак угљен диоксида

Одредити ацидо-базни статус артеријске крви пацова:

- концентрацију базног пуферског система
- концентрацију слободних бикарбонатних јона

Одредити оксигени статус артеријске крви пацова:

- концентрацију резидуалног кисеоника
- парцијални притисак резидуалног кисеоника

Одредити оксиметријске параметре артеријске крви пацова:

- концентрацију хемоглобина
- процентуалну сатурацију кисеоника
- процентуалну везаност кисеоника за хемоглобин
- процентуалну везаност угљен монооксида за хемоглобин
- концентрацију метхемоглобина изражена у процентима

Одредити метаболитичке параметре артеријске крви пацова:

- концентрацију глукозе
- концентрацију лактозе
- концентрацију билирубина

Одредити активност серумске (псеудо) и еритроцитне (права) холинестеразе у крви пацова трованих малатионом и штићених различитим комбинацијама натријум бикарбоната и стандардних антидота.

Утврдити проценат преживљавања код трованих пацова и група пацова третираних антидотима.

#### **Хипотезе :**

1. Применом натријум бикарбоната и оптималном алкализацијом крви пацова, која неће битно пореметити виталне функције организма, може се битно убрзати хидролиза малатиона и поспешити елиминација његових активних метаболита из организма.
2. Ниже концентрације активних метаболита малатиона у крви пацова као и њихова бржа елиминација из организма проузроковаће већу ефикасност примењених антидота (атропин, пралидоксим, диазепам).
3. За очекивати је да појачана ефикасност примењених антидота доведе до статистички значајног преживљавања у групама животиња трованих малатионом којима су дате различите комбинације натријум бикарбоната и антидота.

#### **2.3. Подобност кандидата**

Кандидат је положио усмени докторантски испит са оценом 9 (девет), 20.03.2008 год. и објавио један рад у међународном часопису са стручном рецензијом као и два рада у националним часописима са стручном рецензијом у којима је први аутор, чиме је испунио услов за пријаву докторске тезе.

#### **2.4. Преглед стања у подручју истраживања**

Развој ефикасних антидота у тровању оргоанофосфорним једињењима (ОФЈ) представља константан наућно-истраживачки изазов већ неколико деценија. Терапија акутних тровања ОФЈ, конвенционално се базира на примени атропина, оксима (реактиватори инхибиране холинестеразе) и диазепама као антидота. Иако је прошло више од пола века од увођења првог реактиватора холинестеразе, оксим који би био једнако ефикасан у тровањима различитим типовима ОФЈ још није пронађен. Оксими : тримедоксим, Лух-6 (обидоксим), пралидоксим и Хи-6 ( биспиримидини) сматрају се довољно ефикасним у тровањима нервним бојним отровима и ОФ инсектицидима што је последично довело до њихове широке примене у експерименталној и клиничкој токсикологији како у војном тако и у цивилном домену.

Упоредо са истраживањима која имају за циљ процену ефикасности оксима у терапији акутних тровања ОФЈ трага се и за другим терапијским средствима која би ову терапију унапредила.

У циљу даљег побољшања терапије ОФЈ на експерименталним животињама и код људи испитан је, иако на релативно малом броју узорака односно случајева, ефекат натријум бикарбоната датог пер се или у комбинацији са другим, горе поменутиим антидотима.

Резултати ових студија, који су објављени у домаћим и међународним часописима, указују да примена натријум бикарбоната доводи до даљњег побољшања ефикасности стандардних антидота код акутних тровања различитим ОФЈ.

Иако у публикованим студијама то није директно доказано изнето је мишљење да ефикасност натријум бикарбоната (алкализација крви) проистиче из појачане хидролизе ОФЈ и њихове брже елиминације из организма.

Значај примене натријум бикарбоната као јефтиног и широко доступног терапијског средства посебно је изражен код земаља у развоју код којих се региструје велики број акутних интоксикација ОФ инсектицидима у људи и животиња.

Такође, и у земљама које имају развијену фармакотерапијску праксу може се десити да при специфичним околностима (велике елементарне непогоде, ратови и санкције) класични антидоти не буду доступни у реалном времену па би примена натријум бикарбоната била, не у потпуности, алтернатива савременог лечења тровања овим једињењима.

Интоксикација малатионом (премда је ово једињење напуштено због својих токсиколошких карактеристика у бројним земљама света) представља прави изазов јер је овај отров представник такозваних индиректних инхибитора холинестеразе. Наиме, малатион се у јетри конвертује до активног облика малаоксона уз последичну разградњу до других, бројних, активних метаболита. Стога је и терапија тровања овим отровом тешка а исход како у животиња тако и у људи често фаталан.

Како је у претходном тексту наглашено, терапијска примена натријум бикарбоната могла би довести до брже и обимније деградације малатиона и убрзане екскреције његових активних метаболита што би у крајњем случају довело до успешнијег лечења тровања овим отровом али и у случају интоксикација другим ОФЈ који поседују тзв активне метаболите.

Будући да се раствори натријум бикарбоната већ дуги низ година користе у клиничкој пракси а жељени и нежељени ефекти су добро познати, шира примена овог средства у клиничкој терапији интоксикација ОФ једињењима могла би бити поуздано контролисана путем одговарајућих клиничких и биохемијских параметара. Ово посебно у случајевима када здравствена установа поседује потенцијал за тзв. интердисциплинарни приступ сваком обољењу или тровању.

## **2.5. Значај и циљ истраживања са становишта актуелности у одређеној научној области**

### **Циљ :**

1. Применом растућих доза натријум бикарбоната примењеног пер ос у пацова, одредити оптимално време давања и дозу натријум бикарбоната.
2. На основу праћења токсикокинетских чинилаца метаболизма малатиона, биохемијских и других релевантних параметара испитати дејство натријум бикарбоната датог пер се или у комбинацији са другим стандардним антидотима на ефикасност примењене терапије и преживљавање пацова интоксицираних малатионом.
3. На основу горе поменутих података утврдити тачан механизам дејства натријум бикарбоната у пацова трованих малатионом.

### **Значај :**

Предложено истраживање има : **фундаментални и практични значај.**

**Фундаментално**, добиће се подаци о утицају модалитета лечења (терапија натријум бикарбонатом, атропином, оксимом и диазепамом, наспрам тројне антидотске терапије атропином, оксимом и диазепамом) на деградацију и брзину елиминације малатиона, реактивацију инхибиране серумске и еритроцитне холинестеразе и других релевантних параметара у пацова трованих малатионом.

**Практично** биће установљени критеријуми за оправданост примене натријум бикарбоната како у експерименталним тако и у клиничким интоксикацијама малатионом.

## 2.6. Веза са досадашњим истраживањима

У досада објављеној и нама доступној литератури приказана је терапијска ефикасност натријум бикарбоната у тровањима различитим типовима ОФЈ. У свега неколико радова разматрани су терапијски ефекти натријум бикарбоната у експерименталним и клиничким тровањима малатионом. Наша студија по први пут има за циљ ближе и детаљније упознавање тачних механизма дејства натријум бикарбоната у пацова трованих малатионом.

## 2.7. Методе истраживања

### Хемикалије :

Натријум бикарбонат је набављен из комерцијалних извора. Малатион је набављен од фирме „ Галеника-Фитофармација „а.д.. Аналитичком провером утврђена је техничка чистоћа од 98,65% активне супстанце малатиона. Пралидоксим је добијен од Војномедицинске академије Београд. Аналитичком провером оксима у Токсиколошкој лабораторији, Националног Центра за контролу тровања ВМА, ХПЛЦ техником утврђен је степен чистоће од >99,0%. Атропин сулфат (Сигма компанија, Ст.Луис, УСА) набављен је из комерцијалних извора. Диазепам (Хемофарм, Вршац, Србија) набављен је из комерцијалних извора. Све друге хемикалије коришћене у овој студији су набављене из комерцијалних извора.

**Анимални модели:** У експерименту коришћени су искључиво пацови мужјаци, соја Вистар (180-240 гр), добијени од стране Фарме експерименталних животиња ВМА. Протокол студије базиран је на Водичу за животињске студије бр.282-12/2002 (Етички Комитет Војномедицинске Академије, Београд, Србија). У свим испитиваним групама коришћено је по 6 до 10 животиња.

**Антидотска заштита:** Да би се проверио заштитни ефекат испитиваних антидота после 24х Од примене израчунате су средње леталне дозе (ЛД<sub>50</sub>) према методи Литчфилд и Вилксон. Заштитни индекси израчунавани су према следећој формули:

$$\text{Заштитни индекс ( антидоти )} = \frac{\text{ЛД}_{50} \text{ ( малатион + антидот )}}{\text{ЛД}_{50} \text{ ( малатиона )}}$$

### Биохемија:

рН статус, ацидобазни статус, окигени, оксиметријским статус и метаболитичкин статус регистровани су на гасно анализатору АБС 7000 Клинике за ургентну токсикологију ВМА. Токсикокинетски параметри метаболизма малатиона одређивани су ХПЛЦ техником у Одељењу за токсиколошку хемију ВМА. Активност серумске и еритроцитне холинестеразе одређивана је спектрофотометријски и флуориметријски у Одељењу за токсиколошку хемију ВМА.

Студија ће се спроводити као непрофитно, експериментално истраживање, уз одобрење надлежног Етичког одбора ВМА и уз сагласност Клинике за ургентну токсикологију ВМА и Лабораторије за токсиколошку хемију Националног центра за контролу тровања ВМА.

## **Статистичка обрада**

Статистичка анализа праћених параметара биће извршена путем стандардних процедура дескриптивне статистике. У зависности од варијабилитета посматраних обележја поређења између група биће спроведена помоћу неких од параметарских (Студентов т тест, анализа варијансе) или непараметарских тестова (Манн-Вхитнеу, Крускал-Валис). Биће утврђена три нивоа статистичке значајности: значајно- $p < 0.5$ ; умерено значајно- $p < 0.01$ ; високо значајно- $p < 0.001$ .

### **2.8. Очекивани резултати докторске дисертације**

Утврђивање оптималних, нетоксичних доза натријум бикарбоната које би пер се или у комбинацији са другим антидотима довели до јаче хидролизе малатиона и брже екскреције његових активних метаболита из организма. Повећање реактиваторске моћи оксима када се примени са натријум бикарбонатом. Повећани степен заштите отрованих животиња после наведене примене.

### **2.9. Оквирни садржај дисертације**

Применом оптималних доза натријум бикарбоната датог пер се или у комбинацији са различитим антидотима, у пацова трованих малатионом, биће испитано његово дејство на токсикохемијске показатеље метаболизма малатиона, рН, ацидо-базни статус, оксигени статус, оксиметријски статус, метаболитички статус као и степен реактивације холинестеразе у артеријској крви трованих пацова. Регистрацијом горе поменутих параметара и процента преживљавања интоксицираних животиња утврдићемо тачне механизме дејства малатиона и ефикасност натријум бикарбоната у овом тровању.

### **2.10. Научна област дисертације**

Медицина. Ужа област Експериментална фармакологија и токсикологија

### **2.11. Научна област чланова комисије**

1. Проф. Др Драган Миловановић, председник и потенцијални ментор, ванредни професор Медицинског факултета Универзитета у Крагујевцу за ужу научну област Фармакологија и токсикологија.
2. Проф. Др Слободан Јанковић, члан, редовни професор Медицинског Факултета Универзитета у Крагујевцу за уже научне области Фармакологија и токсикологија и Клиничка фармација.
3. Проф. Др Дубравко Бокоњић, члан, редовни професор Војномедицинске академије у Београду за ужу научну област Фармакологија и токсикологија.

## Закључак и предлог комисије

1. На основу досадашњег научно истраживачког рада и публикованих радова кандидат докторант др вет.мед.спец. Марковић Мирослав, испуњава све услове прописане Статутом Медицинског факултета и законом о универзитету за одобрење теме и израду докторске дисертације.
2. Предложена тема је научно оправдана и оригинална, дизајн истраживања прецизно постављен и дефинисан, а научна методологија јасна и прецизна.
3. Комисија сматра да ће докторска дисертација кандидата **др вет.мед.спец. Марковић Мирослава** указати да постоје статистички значајни резултати и показатељи да 3ммол/л натријум бикарбонат позитивно утиче на клинички исход и оздрављење пацијената акутно отрованих диметски орнаофосфорним инсектицидима.
4. Комисија предлаже Већу ментора Медицинског факултета у Крагујевцу да прихвати тему докторске дисертације кандидата др вет.мед.спец. Марковић Мирослава, под називом „**Утицај натријум бикарбоната и стандардних антидота на ацидо-базни статус пацова акутно трованих малатионом**“ и одобри њену израду.

## Предлог ментора

За ментора ове докторске тезе Комисија предлаже Проф.Др Драгана Миловановића, ванредног професора Медицинског факултета Универзитета у Крагујевцу за ужу научну област Фармакологија и токсикологија. Проф. Др Драган Миловановић поседује стручне и научне компетенције које су комплементарне са предметом истраживања и планираном методологијом, као и искуство и остварене резултате у развоју научно-наставног подмлатка.

27.08.2010 године

Проф. Др Драган Миловановић, председник, потенцијални ментор,  
ванредни професор Медицинског факултета Универзитета у Крагујевцу за ужу научну  
област : Фармакологија и токсикологија

---

Проф.Др Слободан Јанковић, члан,редовни професор Медицинског факултета  
Универзитета у Крагујевцу за уже научне области : Фармакологија и токсикологија и  
Клиничка фармација

---

Проф.Др Дубравко Бокоњић, члан, редовни професор Војномедицинске академије у  
Београду за ужу научну област : Фармакологија и токсикологија

---