

НАСТАВНО-НАУЧНОМ ВЕЋУ МЕДИЦИНСКОГ ФАКУЛТЕТА ВМА
УНИВЕРЗИТЕТА ОДБРАНЕ

Одлуком под бројем 17/107 донесеној на 107. седници Наставно-научног већа Медицинског факултета Војномедицинске академије Универзитета Одбране у Београду одржаној 27.04.2023. године, именована је комисија за оцену завршене докторске дисертације под насловом:

"Претклинички и клинички аспекти токсичности прегабалина са аналитичком потврдом"

Кандидата асистента маг. фарм. – мед. биохем. Марка Антуновића, специјалисте токсиколошке хемије запосленог у Одељењу за токсиколошку хемију Института за токсикологију и фармакологију Центра за контролу тровања ВМА.

Ментор: ВС проф. др Снежана Ђорђевић, редовни професор, Медицински факултет ВМА, Универзитет одбране.

Комисија за оцену завршене докторске дисертације именована је у следећем саставу:

1. ВС проф. др Весна Килибарда, редовни професор, Медицински факултет ВМА, Универзитет одбране – председник
2. ВС проф. др Славица Вучинић, редовни професор, Медицински факултет ВМА, Универзитет одбране - члан
3. ВС проф. др Звездана Стојановић, ванредни професор, Медицински факултет ВМА, Универзитет одбране - члан
4. ВС доц. др Наташа Перковић Вукчевић, доцент, Медицински факултет ВМА, Универзитет одбране - члан
5. Проф. др Маријана Ђурчић, ванредни професор, Фармацеутски факултет, Универзитет у Београду – члан

На основу анализе приложене докторске дисертације, као и идејног пројекта тезе, Комисија за оцену завршене докторске дисертације једногласно подноси Наставно-научном већу Медицинског факултета ВМА Универзитета Одбране следећи извештај:

А) ПРИКАЗ САДРЖАЈА ДОКТОРСКЕ ДИСЕРТАЦИЈЕ

Докторска дисертација написана је на 101 страни и подељена је на следећа поглавља: Увод (17 страна), Хипотезе и циљеви истраживања (1 страна), Материјал и методе (15 страна), Резултати (44 стране), Дискусија (11 страна), Закључци (2 стране) и Литература (11 страна). Теза је употпуњена са 25 слика и 36 табела. У дисертацији су цитирани подаци из 127 референци. Рад по структури има све елементе докторске дисертације.

У приложеном докторском раду истраживање је фокусирано на различите аспекте токсичности прегабалина, психоактивног лека из групе габапентиноида. На основу литературних података и искуства у раду у Центра за контролу тровања ВМА, уочен је пораст акутних тровања прегабалином, како у свету тако и у нашој земљи. Наводи се да постоје географске разлике у смислу заступљености лекова из групе габапентиноида у случајевима терапијске употребе, злоупотребе и акутним тровањима те да постоје разлике у правном статусу ових лекова у различитим регионима и државама. Такође, у досадашњој литератури има мало података о испитивању токсичности прегабалина и корелацији ингестиране дозе и концентрације овог лека са различитим факторима тровања. Додатно, што је посебно значајно, до сада су ретко испитиване интеракције прегабалина са другим лековима, са којима се користи у терапији или се злоупотребљава.

У поглављу Увод кандидат пружа увид у основне карактеристике лека и даје преглед досадашњих сазнања о учесталости прегабалина у случајевима акутних тровања и злоупотребе. Такође се наводи да је прегабалин класификован као контролисана психоактивна супстанца у различитим земљама где се налази на листама које контролишу и ограничавају прописивање и издавање овог лека. За Републику Србију још увек нема званичних података о акутним тровањима и степену злоупотребе прегабалина, и овај лек се до сада не налази ни на једној листи која се односи на контролисане психоактивне супстанце у нашој земљи. У завршном делу увода описани су и фармаколошко-токсиколошки аспекти клоназепама, лека који се често користи у терапији или злоупотребљава у комбинацији са прегабалином.

На основу наведеног постављене су следеће хипотезе истраживања:

1. Предозирања и акутна тровања прегабалином не доводе до тешких тровања, док коингестија лекова из групе седатива/хипнотика и психоактивних супстанци са депресивним деловањем (посебно коингестија бензодиазепина и опиоида) доводе до тежих тровања и већег степена токсичности акутно отрованих пацијената.

2. Истовремена примена прегабалина и клоназепама доводе до израженијих знакова токсичности код експерименталних животиња у односу на њихову појединачну примену, што је вероватно резултат фармакодинамске интеракције ова два лека.

За проверу хипотеза дефинисани су следећи циљеви истраживања:

1. Одредити учесталост акутних тровања и предозирања прегабалином и проценити да ли је у анализираном периоду дошло до повећања инциденце злоупотребе.

2. Помоћу дефинисаних фактора тровања упоредити тежину клиничке слике пацијената са изолованим и комбинованим тровањем прегабалином са другим лековима и психоактивним супстанцама.

3. Коришћењем теста спонтане локомоторне активности и ротарод теста, проценити какав је ефекат истовремене примене прегабалина и клоназепама на степен седације и степен атаксије код експерименталних животиња.

4. Валидовати аналитичку методу за одређивање прегабалина и клоназепама у плазми и хомогенатима ткива мозга, помоћу којих ће се одредити концентрације ова два лека код експерименталних животиња и утврдити да ли постоје фармакокинетичке интеракције приликом њихове истовремене примене.

У поглављу **Материјал и методе** кандидат је јасно дефинисао и представио дизајн истраживања. У првом делу истраживања, спроведеном као ретроспективна опсервациона студија пресека, студијску популацију су чинили пацијенти, лечени у Центру за контролу тровања у периоду између јануара 2012. године и октобра 2022. године, а код којих су лекови из групе габапентиноида били главни или један од узрочника тровања. Наведено је да досадашња литература није конзистентна када је у питању разликовање намере тровања, те су у овом делу јасно наведени критеријуми на основу којих је дефинисана погрешна употреба, злоупотреба и случајеви тровања повезани са суицидом. Сви пацијенти су подељени у три групе како би се утврдиле социо-демографске карактеристике испитиване популације. Пацијенти су додатно класификовани на групу са изолованим тровањем прегабалином и групу са коингестијом других лекова и психоактивних супстанци како би се упоредила и испитала разлика у степену тежине тровања између ове две групе пацијената. Јасно су дефинисани фактори тровања који ће се пратити и анализирати. Додатно, стопа акутних тровања и злоупотребе прегабалина упоређена је са потрошњом овог лека у Србији која је приказана на основу података из годишњих извештаја Агенције за лекове и медицинска средства Србије.

За потребе експерименталног дела истраживања јасно су наведени и описани тестови и методе које ће се користити како би се утврдиле евентуалне интеракције прегабалина и клоназепамом. У циљу испитивања фармакодинамских интеракција приликом акутне примене прегабалина и клоназепамом на експерименталним животињама коришћени су тест спонтане локомоторне активности (СЛА; за испитивање седативних ефеката лекова или њихове комбинације) и ротарод тест (за испитивање степена моторне онеспособљености животиња након примене лекова или њихове комбинације). Детаљно је наведен план развоја и валидације аналитичких метода за одређивање концентрације прегабалина и клоназепамом, које су коришћене за испитивање фармакокинетичких интеракција ова два лека.

Јасно су наведени и описани статистички програми и тестови који су коришћени за анализу добијених података.

У поглављу **резултати**, кандидат приказује детаљно обрађене податке и текстуално, графички и табеларно јасно представља све добијене резултате по фазама истраживања.

Дискусија је написана јасно и прегледно поштујући методологију писања научног истраживања, уз упоредни приказ података из литературе и добијених резултата из докторске дисертације.

Закључци сажето приказују најважније налазе који су проистекли из резултата истраживања.

Литература садржи 127 референци.

Б) КРАТАК ОПИС ПОСТИГНУТИХ РЕЗУЛТАТА

На основу резултата ове докторске дисертације утврђен је вишеструки пораст терапијске употребе прегабалина и акутних тровања овим леком у Републици Србији. Према подацима Агенције за лекове и медицинска средства Србије, у току посматраног периода на који се односило истраживање, потрошња прегабалина је повећана преко 200 пута. Истовремено, у Центру за контролу тровања ВМА прегледано је и лечено 374 пацијента са акутним тровањем лековима из групе габапентиноида и то: 357 (95,5%) случајева тровања прегабалином и 17 (4,5%) случајева тровања габапентином. У високом проценту је детектована злоупотреба прегабалина (27,8%), најчешће код пацијената мушког пола, млађе животне доби који припадају мигрантској популацији.

У резултатима дисертације детаљно су описани случајеви тровања који су до сада ретко пријављивани у литератури (интраназално уношење прегабалина; коришћење габапентиноида у циљу подизања либида; случај изолованог тровања прегабалином у којем је забележена брадикардија). Такође, у резултатима је приказан случај тровања у коме је измерена највиша концентрација прегабалина на пријему (76,16 mg/L), која је до сада пријављена у литератури, код пацијента који је успешно излечен у ЦКТ ВМА. Бензодиазепини су били најчешће коингестирана група лекова, а међу њима је био доминантан клоназепам у свим случајевима тровања (35,4%), посебно у случајевима злоупотребе (63,8%).

Изолована тровања прегабалином су у највећем броју случајева била лаког степена (86,6%), док је коингестија психоактивних лекова и супстанци у око 37% случајева доводила до тровања средње тешког и тешког степена. Коришћењем Спирмановог корелационог теста добијена је јака позитивна корелација ингестиране дозе прегабалина са вредностима ПСС скорa ($r=0.578$, $p<0.01$) и дужином трајања хоспитализације ($r=0.574$, $p<0.01$). Измерена концентрација прегабалина је била статистички значајно виша код хоспитализованих пацијената са тровањем тешког степена, чије је лечење захтевало интубацију и примену механичке вентилације. У групи пацијената са коингестијом других лекова и супстанци, поређењем средњих вредности примећен је пораст концентрација са већим ПСС скором, и умерена корелација са дужином трајања хоспитализације ($r=0.471$, $p<0.01$).

На основу резултата ретроспективне опсервационе студије осмишљени су анимални експерименти у којима су испитиване интеракције прегабалина и клоназепама на пацовима. Коришћењем теста спонтане локомоторне активности и ротарод теста, утврђено је да прегабалин у значајној мери потенцира седативне и атаксичне ефекте клоназепама. Такође је наведено да комбинацијом фиксне дозе прегабалина са различитим дозама клоназепама не долази до нарушавања антидотског потенцијала флумазенила, што представља клинички веома користан податак. У резултатима су приказани валидациони параметри аналитичких метода за одређивање концентрације прегабалина и клоназепама у биолошким узорцима, који су у потпуности задовољили критеријуме валидације предвиђене водичем. Применом наведених метода, утврђено је да између прегабалина и клоназепама нема значајних фармакокинетичких интеракција, те је потенцирање ефеката при истовременој примени прегабалина и клоназепама резултат фармакодинамских интеракција ова два лека.

В) УПОРЕДНА АНАЛИЗА РЕЗУЛТАТА ДОКТОРСКЕ ДИСЕРТАЦИЈЕ СА РЕЗУЛТАТИМА ИЗ ЛИТЕРАТУРЕ

У поглављу дискусија кандидат Марко Антуновић садржајно и критички сагледава резултате овог истраживања и пружа упоредни приказ са постојећим сазнањима добијених анализом података из литературе из области која је предмет ове дисертације. Констатовано је да су у Републици Србији чешћа терапијска примена и акутна тровања прегабалином у односу габапентин, што је у складу са подацима из литературе да је овај лек заступљенији

у европским земљама у односу на неке друге регионе. Резултати су потврдили досадашња сазнања о осетљивој популацији која је у највећем ризику од злоупотребе прегабалина. Оно што је од посебног значаја, упоређена је правна регулатива са другим земљама и кандидат наводи да резултати ове дисертације могу сугерисати регулаторним телима у Републици Србији да размотре досадашњу законску регулативу која се односи на правни статус прегабалина у нашој земљи. Наводи се да резултати добијени испитивањем клиничких карактеристика акутно отрованих пацијената додатно поткрепљују досадашња сазнања да је токсичност прегабалина у случајевима акутних тровања дозно зависна.

Наведено је да су у досадашњој литератури разматране концентрације прегабалина у свега неколико приказа случајева, док је у овој дисертацији аналитички потврђена концентрација у 104 случајева тровања. Анализом концентрације лека утврђене су интериндивидуалне варијације, али и значајно више концентрације прегабалина код хопситализованых пацијената са тежим степеном тровања чије је лечење захтевало интубацију и примену механичке вентилације. Кандидат у овом делу указује на факторе које је неопходно сагледати при интерпретацији резултата концентрације прегабалина код акутно отрованих пацијената. Такође, скренута је и пажња на значај аналитичке потврде тровања и злоупотребе прегабалина, и размотрене су предности укључивања наведене анализе у процедуру токсиколошког скрининга у токсиколошким лабораторијама.

На крају дискусије кандидат наводи да до сада нису рађена слична истраживања у другим здравственим центрима у Републици Србији, те да ови подаци представљају први увид у заступљеност габапентиноида како у терапијској пракси тако и у акутним тровањима и случајевима злоупотребе ових лекова.

Резултати експерименталног дела упоређени су са резултатима сличних истраживања, с обзиром на то да до сада ова комбинација лекова није испитивана у анималним тестовима. Валидоване аналитичке методе за одређивање прегабалина и клоназепама представљају значајан допринос из угла тераписјког мониторинга лекова и дијагностике акутних тровања, имајући у виду да се наведена комбинација лекова користи у политерапији, а честа је и у случајевима злоупотребе и акутних тровања.

Г) ОБЈАВЉЕНИ РАДОВИ ИЗ ДОКТОРСКЕ ДИСЕРТАЦИЈЕ

1. **Antunovic M**, Dzudovic J, Kilibarda V, Vucinic S, Djordjevic S. Validation of the rapid and simple LC-MS/MS method for the quantification of pregabalin in plasma of acutely poisoned patients. *Acta Chromatographica*. 2023 Feb 8; <https://doi.org/10.1556/1326.2023.01104>; M23, ИФ 2,011
2. **Antunovic M**, Vucinic S, Kotur-Stevuljevic J, Krstic K, Jovic-Stosic J, Kilibarda V, Perkovic-Vukcevic N, Djordjevic S. Rise of Pregabalin Poisoning and Abuse Cases in Serbia: A Ten-Year Retrospective Study. *Int J Gen Med*. 2023;16:1239-1250. <https://doi.org/10.2147/IJGM.S405616>; M23, ИФ 2,145

Д) ЗАКЉУЧАК И ПРЕДЛОГ

Докторска дисертација под називом "Претклинички и клинички аспекти токсичности прегабалина са аналитичком потврдом" представља оригинално и актуелно научно дело које је примерено за приказивање широј научној јавности. Реализована је поштујући све принципе методологије писања научног рада као и начела етике у научноистраживачком раду. Дисертација је написана систематично и јасно уз детаљну анализу добијених резултата примерено научног рада у категорији докторске дисертације. Добијени резултати представљају новину у пољу области на које се дисертација односи.

На основу свега наведеног, имајући у виду досадашњи научни рад кандидата, Комисија закључује да докторска дисертација асистента маг. фарм.-мед. биохем. Марка Антуновића испуњава све критеријуме које академска пракса захтева, и као таква, представља значајан допринос проучавању у датој области. Како кандидат испуњава све законом предвиђене услове за одбрану докторске дисертације, комисија једногласно предлаже Одбору за докторске студије и научноистраживачку делатност Медицинског факултета ВМА УО да овај рад прихвати као завршену докторску дисертацију кандидата асистента маг. фарм.-мед. биохем. Марка Антуновића и одобри за јавну одбрану.

У Београду, 17.5.2023. године

ВС проф. др Весна Килибарда

Весна Килибарда

ВС проф. др Славица Вучинић

Славица Вучинић

ВС проф. др Звездана Стојановић

Звездана Стојановић

ВС доц. др Наташа Перковић Вукчевић

Н.П. Вукчевић

проф. др Маријана Ђурчић

Маријана Ђурчић



РЕПУБЛИКА СРБИЈА
МИНИСТАРСТВО ОДБРАНЕ
УНИВЕРЗИТЕТ ОДБРАНЕ
Медицински факултет ВМА

Бр. 1971-1

17 MAY 2023 год.
БЕОГРАД