



UNIVERZITET U NOVOM SADU  
MEDICINSKI FAKULTET  
KLINIČKA ISTRAŽIVANJA

**UPOREDNA ANALIZA PATOHISTOLOŠKIH  
PROMENA U BUBREZIMA I PROMENA VREDNOSTI  
BIOHEMIJSKIH PARAMETARA U KRVI KOD LJUDI  
I PACOVA UZROKOVANIH  
3,4-METILENDIOKSIMETAMFETAMINOM (MDMA)**

DOKTORSKA DISERTACIJA

Mentori:  
Doc. dr Miljen Maletin  
Prof. dr Zoran Šegrt

Kandidat:  
dr Ivan Aleksić

Novi Sad, 2020. godina

**UNIVERZITET U NOVOM SADU  
MEDICINSKI FAKULTET**

**KLJUČNA DOKUMENTACIJSKA INFORMACIJA**

Redni broj: RBR	
Identifikacioni broj: IBR	
Tip dokumentacije: TD	Monografska dokumentacija
Tip zapisa: TZ	Tekstualni štampani materijal
Vrsta rada (dipl., mag., dokt.): VR	Doktorska disertacija
Ime i prezime autora: AU	Ivan Aleksić
Mentor (titula, ime, prezime, zvanje): MN	<b>Doc. dr Miljen Maletin</b> docent Medicinskog fakulteta Univerziteta u Novom Sadu  <b>Prof. dr Zoran Šegrt</b> vanredni profesor Medicinskog fakulteta Vojnomedicinske akademije Univerziteta odbrane u Beogradu
Naslov rada: NR	Uporedna analiza patohistoloških promena u bubrezima i promena vrednosti biohemijskih parametara u krvi kod ljudi i pacova uzrokovanih 3,4-metilendioksimetamfetaminom (MDMA)
Jezik publikacije: JP	Srpski (latinica)
Jezik izvoda: JI	srp. / eng.
Zemlja publikovanja: ZP	Republika Srbija
Uže geografsko područje: UGP	Autonomna Pokrajina Vojvodina
Godina: GO	2020.
Izdavač: IZ	autorski reprint
Mesto i adresa: MA	Novi Sad, Hajduk Veljkova 3

Fizički opis rada: FO	(broj poglavlja 8 / stranica 138 / slika 22 / tabela 26 / grafikona 56 / referenci 204 / priloga / )
Naučna oblast: NO	Medicina
Naučna disciplina: ND	Sudska medicina
Predmetna odrednica, ključne reči: PO	N-metil-3,4-metilendioksiamfetamin; halucinogeni; akutno oštećenje bubrega; amfetamini; slikovna citometrija; patološki procesi; pacovi; eksperimenti na životinjama; kadaver; uzrok smrti; biohemijski fenomeni; obdukcija
UDK	616.61-091.8:615.214.099 599.323.4:612.085
Čuva se: ČU	Biblioteka Medicinskog fakulteta Univerziteta u Novom Sadu, Hajduk Veljkova 3, Novi Sad
Važna napomena: VN	
Izvod: IZ	<p><b>Uvod:</b> Upotreba psihostimulativnih supstanci u poslednjim decenijama je dostigla velike razmere, posebno sintetička supstanca „ekstazi“. Aktivna komponenta ekstazija je derivat amfetamina 3,4-metilendioksimetamfetamin (MDMA). MDMA izaziva nefrotoksično oštećenje, koje se karakteriše različitim patohistološkim promenama i promenama vrednosti biohemijskih parametara u krvi.</p> <p><b>Ciljevi:</b> Ciljevi ovog istraživanja su da se ustanove vrsta i ukupan broj patohistoloških promena u bubrezima pacova i humanih kadavera i morfometrijska analiza ovih promena, koje su nastale kao posledica dejstva MDMA; da se ustanove promene vrednosti biohemijskih parametara u krvi pacova i da li postoji statistički značajna razlika između tih vrednosti kod pacova u kontrolnim i eksperimentalnim grupama i između eksperimentalnih grupa; da se utvrdi povezanost između patohistoloških promena u bubrezima i biohemijskih parametara u krvi pacova; da se utvrdi odnos između morfometrijski kvantifikovanih patohistoloških</p>

promena u bubrezima pacova i humanih kadavera.

**Materijal i metode:** Istrživanje je retrospektivno - prospektivno sprovedeno na ogleđnim životinjama (pacovi) i humanom materijalu u Institutu za patologiju i sudsku medicinu Vojnomedicinske akademije u Beogradu. U istraživanje je bilo uključeno 144 pacova, raspoređenih u tri komore sa temperaturama vazduha 12°C, 22°C i 32°C. U svakoj komori je bilo po šest grupa sa po osam pacova. U kontrolnim grupama pacovima je aplikovana destilovana voda, a u eksperimentalnim grupama rastvor 3,4-metilendiosimetamfetamina u dozama od po 20 mg/kg i 40 mg/kg telesne mase. Polovina od ukupnog broja pacova je žrtvovana posle 8 sati, a druga polovina posle 24 sata od početka eksperimenta. U toku eksperimenta pacovima je merena telesna temperatura i uzeta krv za analizu biohemijskih parametara (glukoza, kreatinin, kreatin kinaza - CK, laktat dehidrogenaza - LDH, natrijum, kalijum, kalcijum, hlor, osmolalitet, aspartat aminotransferaza - AST, urea nitrat - BUN). Posle žrtvovanja pacovima su uzeti uzorci tkiva bubrega za patohistološku analizu. U istraživanje je bilo uključeno osam humanih kadavera (7 muškog i 1 ženskog pola) umrlih usled trovanja MDMA. U toku obdukcije uzeti su uzorci tkiva bubrega za patohistološku analizu. Korišćene su i vrednosti biohemijskih parametara (glukoza, kreatinin, kreatin kinaza - CK, laktat dehidrogenaza - LDH, natrijum, kalijum, kalcijum, hlor, osmolalitet, aspartat aminotransferaza - AST, urea nitrat - BUN) u krvi uzetih u toku hospitalizacije, pre nastupanja smrti. Patohistološke promene u bubrezima pacova i humanih kadavera su kvantifikovane morfometrijskom analizom.

**Rezultati:** Kao posledica delovanja MDMA u bubrezima pacova u humanih kadavera su patohistološkom analizom ustanovljene promene: venska kongestija, intersticijalni edem, reverzibilno oštećenje bubrežnih tubula, dilatacija bubrežnih tubula, epitelne ćelije u lumenu bubrežnih tubula, inflamatorni infiltrat,

	<p>sadržaj u lumenu bubrežnih tubula, nekroza bubrežnih tubula i fibroblastna proliferacija. Postojala je statistički značajna razlika između vrednosti analiziranih biohemijskih parametara u krvi pacova u kontrolnim i eksperimentalnim grupama, kao i između eksperimentalnih grupa u odnosu na aplikovanu dozu MDMA u sredini sa višom temperaturom, žrtvovanih posle dužeg vremenskog perioda i eksperimentalnih grupa, kojima je aplikovana manja doza MDMA u sredini sa nižom temperaturom, žrtvovanih posle kraćeg vremenskog perioda od početka eksperimenta. Veće promene vrednosti biohemijskih parametara u krvi su bile kod pacova sa većim brojem i kvantitativno izraženijim patohistološkim promenama u bubrežima. Kod humanih kadavera su takođe bile prisutne promene vrednosti biohemijskih parametara u krvi. Nije postojala statistički značajna razlika između morfolometrijski analiziranih površina intersticijalnog edema kod pacova žrtvovanih posle 8 sati i humanih kadavera, a kod pacova žrtvovanih posle 24 sata morfolometrijski analizirane površine intersticijalnog edeme su bile statistički značajno veće kod humanih kadavera u odnosu na eksperimentalne grupe pacova. Kod morfolometrijski analiziranih površina nekroze bubrežnih tubula kod pacova žrtvovanih posle 8 sati i humanih kadavera, kao ni između pacova žrtvovanih posle 24 sata i humanih kadavera nije postojala statistički značajna razlika.</p> <p><b>Zaključak:</b> Rezultati ovog istraživanja pružaju nova saznanja o nefrotoksičnosti MDMA. Patohistološke promene u bubrežima i promene vrednosti biohemijskih parametara u krvi mogu biti značajne u dijagnostici trovanja, kao i utvrđivanja uzroka smrti, koje je nastalo kao posledica zloupotrebe MDMA.</p>
Datum prihvatanja teme od strane Senata: DP	28.11.2019. godine
Datum odbrane: DO	

<p>Članovi komisije: (ime i prezime / titula / zvanje / naziv organizacije / status) KO</p>	<p>predsednik: član: član:</p>
---	--

**University of Novi Sad  
Faculty of Medicine**

**Key word documentation**

Accession number: ANO	
Identification number: INO	
Document type: DT	Monograph documentation
Type of record: TR	Textual printed material
Contents code: CC	Ph. D. thesis
Author: AU	Ivan Aleksić
Mentor: MN	<b>Miljen Maletin</b> Ph.D, Assistant Professor, Faculty of Medicine, University of Novi Sad, Serbia  <b>Zoran Šegrt</b> Ph.D, Associate Professor, Faculty of Medicine Military Medical Academy, University of Defense, Belgrade, Serbia
Title: TI	Comparison of histopathological renal changes and blood plasma biochemical parameters between human and rats caused by 3,4- methylenedioxymethamphetamine (MDMA)
Language of text: LT	Serbian (latin)
Language of abstract: LA	eng. / srp.
Country of publication: CP	Republic of Serbia
Locality of publication: LP	Autonomous Province of Vojvodina
Publication year: PY	2020.
Publisher: PU	Author reprint

Publication place: PP	Novi Sad, Hajduk Veljkova 3
Physical description: PD	(number of chapters 8 / pages 138 / pictures 22 / tables 26 / graphics 56 / references 204 / attachments / )
Scientific field SF	Medical Science
Scientific discipline SD	Forensic Medicine
Subject, Key words SKW	N-Methyl-3,4-methylenedioxyamphetamine; Hallucinogens; Acute Kidney Injury; Amphetamines; Image Cytometry; Pathologic Processes; Rats; Animal Experimentation; Cadaver; Cause of Death; Biochemical Phenomena; Autopsy
UC	616.61-091.8:615.214.099 599.323.4:612.085
Holding data: HD	Library of Faculty of Medicine, University of Novi Sad, Hajduk Veljkova 3, Novi Sad
Note: N	
Abstract: AB	<p><b>Introduction:</b> Psychostimulant's abuse has reached great proportions over the last decades, especially abuse of synthetic drug ecstasy. 3,4-methylenedioxymethamphetamine (MDMA), amphetamine derivate, is the active compound of ecstasy. It causes nephrotoxicity, which can lead to various histopathological changes and blood plasma biochemical parameters' changes.</p> <p><b>Aims:</b> The aim of this study was: to evaluate types and number of histopathological changes of kidneys of rats and humans caused by MDMA, as well as to quantify this changes using morphometrical analysis; to evaluate changes of biochemical parameters of blood plasma in rat; to find out if there is a statistically significant difference in biochemical parameters of rats in control and experimental groups and between experimental groups; to find out the relation between histopathological parameters of kidneys and blood plasma biochemical parameters in rats; to evaluate the relation between morphometrically quantified histopathological changes in kidneys of rats and</p>



humans.

**Material and methods:** Retrospective-prospective study on experimental animals (rats) and human material was done at the Institute of Pathology and Forensic Medicine Military Medical Academy in Belgrade. This study included 144 rats organized in three chambers with air temperatures 12°C, 22°C and 32°C, respectively. Each chamber included six groups of rats with eight rats in each group. Distillated water was applied to rats in control groups. The solution of 3,4-methylenedioxyamphetamine with dosage of 20 mg/kg and 40 mg/kg was applied do experimental groups of rats. A half of the total number of rats was sacrificed after 8 hours, and the others after 24 hours from the beginning of the experiment. During the experiment temperature was measured and blood was taken for biochemical analysis of glucose, creatinine, creatine kinase - CK, lactate dehydrogenases - LDH, sodium, potassium, calcium, chloride, osmolality, aspartate aminotransferase - AST, blood urea nitrogen - BUN. Samples of kidneys were taken after rats sacrificing for histopathological analysis. This study also included eight human cadavers (7 male and one female), who had MDMA poisoning as a cause of death. Kidney samples of humans were sampled for histopathological analysis. The values of biochemical parameters (glucose, creatinine, creatine kinase - CK, lactate dehydrogenases - LDH, sodium, potassium, calcium, chloride, osmolality, aspartate aminotransferase - AST and blood urea nitrogen - BUN) from blood taken during hospitalization, before death, were used in this study. Histopathological changes in kidneys of rats and humans were quantified using morphometrical analysis.

**Results:** Histopathological changes due to MDMA in kidneys of rats and humans are congestion, interstitial edema, reversible tubular changes, dilatation of renal tubules, epithelial cells in renal tubules, inflammatory infiltrate, content in renal tubules, renal tubule's necrosis

	<p>and proliferation of fibroblasts.</p> <p>There was a statistically significant difference between analyzed biochemical parameters in blood of rats between control and experimental groups, as well as between experimental groups with different applied dosage of MDMA, environmental temperature and time of sacrificing of rats. Rats with greater number and quantitatively more expressed histopathological changes in kidneys had greater values of biochemical parameters. Humans also had changes in blood biochemical parameters. There was no statistically significant difference between morphometrically - analyzed area of interstitial edema in rats sacrificed after 8 hours and humans. Morphometrically - analyzed area of interstitial edema in humans were statistically significant greater comparing to rats sacrificed after 24 hours. There was no statistically significant difference between morphometrically-analyzed area of necrosis of renal tubules between neither humans and rats sacrificed after 8 hours, nor humans and rats sacrificed after 24 hours.</p> <p><b>Conclusion:</b> New data about nephrotoxicity of MDMA are results of this study. Histopathological changes in kidneys and blood plasma biochemical changes after MDMA abuse are helpful and important in poisoning and cause of death evaluation.</p>
Accepted on Senate on: AS	November 28 <sup>th</sup> , 2019
Defended: DE	
Thesis Defend Board: DB	President:  Member:  Member:

*Zahvaljujem se svima, koji su mi tokom izrade ove doktorske disertacije pružili nesebičnu podršku, stručnu pomoć, podelili praktične savete i preneli svoje stečeno iskustvo.*

*Autor*

# SADRŽAJ

<b>1. UVOD .....</b>	<b>1</b>
1.1. PSIHOAKTIVNE SUPSTANCE .....	1
1.2. REKREATIVNE DROGE .....	1
1.3. DIZAJNIRANE DROGE .....	2
1.4. AMFETAMINI .....	3
1.4.1. Opšte karakteristike .....	3
1.4.2. Istorijat .....	3
1.4.3. Farmakologija .....	4
1.4.4. Način unošenja u organizam i farmakokinetika .....	5
1.5. 3,4-METILENDIOKSIMETAMFETAMIN (MDMA) - „ECSTASY“ .....	7
1.5.1. Istorijat .....	7
1.5.2. Epidemiologija zloupotrebe u svetu .....	8
1.5.3. Farmakologija .....	9
1.5.4. Farmakokinetika .....	10
1.5.4.1. Resorpcija .....	10
1.5.4.2. Metabolizam .....	11
1.5.4.3. Eliminacija .....	13
1.5.4.4. Način unošenja u organizam .....	14
1.5.4.5. Klinički simptomi i znaci trovanja .....	15

1.6. ANATOMSKE I HISTOLOŠKE KARAKTERISTIKE BUBREGA ČOVEKA .....	17
1.7. ANATOMSKE I HISTOLOŠKE KARAKTERISTIKE BUBREGA PACOVA .....	23
1.8. RAZLIKE U ANATOMSKIM I HISTOLOŠKIM KARAKTERISTIKAMA IZMEĐU BUBREGA ČOVEKA I PACOVA .....	27
1.9. NEFROTOKSIČNOST MDMA I PATOHISTOLOŠKE PROMENE U BUBREZIMA ... .....	28
1.10. PROMENE VREDNOSTI BIOHEMIJSKIH PARAMETARA U KRVI NASTALE KAO POSLEDICA DEJSTVA MDMA .....	29
<b>2. CILJEVI ISTRAŽIVANJA .....</b>	<b>30</b>
<b>3. RADNE HIPOTEZE .....</b>	<b>31</b>
<b>4. MATERIJAL I METODE .....</b>	<b>32</b>
4.1. ANIMALNI MATERIJAL .....	32
4.1.1. Toksikološko - hemijska analiza tableta „ekstazi“ .....	32
4.1.2. Eksperiment na oglednim životinjama .....	34
4.1.3. Analiza biohemijskih parametara u krvi .....	35
4.2. HUMANI MATERIJAL .....	35
4.2.1. Kriterijumi za uključivanje humanih kadavera u istraživanje .....	36
4.2.2. Kriterijumi za isključivanje humanih kadavera iz istraživanja .....	36
4.2.3. Toksikološko - hemijska analiza uzoraka biološkog materijala humanih kadavera . .....	37
4.3. PATOHISTOLOŠKA OBRADA UZORAKA TKIVA BUBREGA .....	38
4.3.1. Hematoksilin - eozin (H&E) bojenje .....	39

4.3.2. Periodic Acid Schiff (PAS) - Mc Manus bojenje .....	39
4.4. MORFOMETRIJSKA ANALIZA PATOHISTOLOŠKIH PROMENA U BUBREZIMA PACOVA I HUMANIH KADAVERA .....	40
4.5. STATISTIČKA ANALIZA PODATAKA .....	41
<b>5. REZULTATI .....</b>	<b>42</b>
5.1. TELESNA TEMPERATURA PACOVA .....	42
5.2. PATOHISTOLOŠKE PROMENE U BUBREZIMA PACOVA .....	49
5.3. PERIODIC ACID SCHIFF (PAS) - MC MANUS BOJENJE PATOHISTOLOŠKIH ..... UZORAKA TKIVA BUBREGA PACOVA .....	72
5.4. MORFOMETRIJSKA ANALIZA PATOHISTOLOŠKIH PROMENA U BUBREZIMA PACOVA .....	81
5.4.1. Morfometrijska analiza intersticijalnog edema u bubrezima pacova .....	81
5.4.2. Morfometrijska analiza epitelnih ćelija u lumenu bubrežnih tubula pacova .....	84
5.4.3. Morfometrijska analiza nekroze bubrežnih tubula pacova .....	86
5.5. BIOHEMIJSKI PARAMETRI U KRVI PACOVA .....	88
5.5.1. Vrednosti biohemijskih parametara u krvi pacova .....	88
5.5.2. Odnos između vrednosti biohemijskih parametara u krvi pacova .....	95
5.6. POVEZANOST IZMEĐU PATOHISTOLOŠKIH PROMENA U BUBREZIMA I VREDNOSTI BIOHEMIJSKIH PARAMETARA U KRVI PACOVA .....	98
5.7. HUMANI KADAVERI UMRLI USLED TROVANJA LETALNIM DOZAMA MDMA .....	100
5.7.1. Patohistološke promene u bubrezima humanih kadavera .....	100

5.8. PERIODIC ACID SCHIFF (PAS) - MC MANUS BOJENJE PATOHISTOLOŠKIH UZORAKA TKIVA BUBREGA HUMANIH KADAVERA .....	102
5.9. MORFOMETRIJSKA ANALIZA PATOHISTOLOŠKIH PROMENA U BUBREZIMA HUMANIH KADAVERA .....	104
5.10. ODNOS IZMEĐU MORFOMETRIJSKI ANALIZIRANIH PATOHISTOLOŠKIH PROMENA U BUBREZIMA PACOVA HUMANIH KADAVERA .....	105
5.11. VREDNOSTI BIOHEMIJSKIH PARAMETARA U KRVI HUMANIH KADAVERA .....	105
<b>6. DISKUSIJA .....</b>	<b>107</b>
6.1. TELESNA TEMPERATURA PACOVA .....	107
6.2. PATOHISTOLOŠKE PROMENE U BUBREZIMA PACOVA I HUMANIH KADAVERA .....	108
6.3. BIOHEMIJSKI PARAMETRI U KRVI PACOVA I HUMANIH KADAVERA .....	113
<b>7. ZAKLJUČCI .....</b>	<b>120</b>
<b>8. LITERATURA .....</b>	<b>124</b>

## LISTA SLIKA

<b>Slika 1.</b> Glavni metabolički putevi amfetamina (AMPH) i metamfetamina (METH) .....	6
<b>Slika 2.</b> Strukturna formula 3,4-metilendioksimetamfetamina (MDMA) .....	9
<b>Slika 3.</b> Glavni metabolički putevi 3,4-metilendioksimetamfetamina (MDMA, ekstazi) .....	12
<b>Slika 4.</b> Primeri različitih tableta „ekstazi“ .....	14
<b>Slika 5.</b> Anatomska građa bubrega čoveka .....	18
<b>Slika 6.</b> Histološka građa bubrega čoveka (H&E, 40x) .....	20
<b>Slika 7.</b> Građa glomerula bubrega .....	21
<b>Slika 8.</b> Šematski prikaz glomerula bubrega i ćelija tubulskog sistema nefrona .....	22
<b>Slika 9.</b> Anatomska građa bubrega pacova .....	24
<b>Slika 10.</b> Fotografija tableta „ekstazi“ .....	33
<b>Slika 11.</b> Mikroskop Olympus BX 43 sa digitalnom kamerom Olympus SC 50 (Nemačka) .....	40
<b>Slika 12.</b> Venska kongestija (H&E, 200x) .....	49
<b>Slika 13.</b> Intersticijalni edem (H&E, 200x) .....	50
<b>Slika 14.</b> Reverzibilno oštećenje bubrežnih tubula (H&E, 200x) .....	50
<b>Slika 15.</b> Dilatacija bubrežnih tubula (H&E, 200x) .....	51
<b>Slika 16.</b> Epitelne ćelije u lumenu bubrežnih tubula (H&E, 200x) .....	51
<b>Slika 17.</b> Inflamatorni infiltrat (H&E, 40x) .....	52
<b>Slika 18.</b> Sadržaj u lumenu bubrežnih tubula (H&E, 40x) .....	52
<b>Slika 19.</b> Nekroza bubrežnih tubula (H&E, 200x) .....	53



<b>Slika 20.</b> Fibroblastna proliferacija (H&E, 40x) .....	53
<b>Slika 21.</b> Zadebljanje bazalne membrane glomerula bubrega (PAS, Mc Manus, 40x) .....	103
<b>Slika 22.</b> Zadebljanje bazalne membrane glomerula bubrega i sadržaj u lumenu bubrežnih tubula (PAS, Mc Manus, 40x) .....	103

## LISTA TABELA

<b>Tabela 1.</b> Razlike u anatomskim i histološkim karakteristikama između bubrega čoveka i pacova .....	27
<b>Tabela 2.</b> Telesna temperatura pacova u sredini sa temperaturom 12°C žrtvovanih posle 8 sati .....	43
<b>Tabela 3.</b> Telesna temperatura pacova u sredini sa temperaturom 22°C žrtvovanih posle 8 sati .	44
<b>Tabela 4.</b> Telesna temperatura pacova u sredini sa temperaturom 32°C žrtvovanih posle 8 sati .	45
<b>Tabela 5.</b> Telesna temperatura pacova u sredini sa temperaturom 12°C žrtvovanih posle 24 sata .....	46
<b>Tabela 6.</b> Telesna temperatura pacova u sredini sa temperaturom 22°C žrtvovanih posle 24 sata .....	47
<b>Tabela 7.</b> Telesna temperatura pacova u sredini sa temperaturom 32°C žrtvovanih posle 24 sata .....	48
<b>Tabela 8.</b> Morfometrijska analiza površine intersticijalnog edema (%) u bubrezima pacova žrtvovanih posle 8 sati .....	82
<b>Tabela 9.</b> Morfometrijska analiza površine intersticijalnog edema (%) u bubrezima pacova žrtvovanih posle 24 sata .....	83
<b>Tabela 10.</b> Morfometrijska analiza površine koju zahvataju epitelne ćelije (pix <sup>2</sup> ) u lumenu bubrežnih tubula pacova žrtvovanih posle 8 sati .....	84
<b>Tabela 11.</b> Morfometrijska analiza površine koju zahvataju epitelne ćelije (pix <sup>2</sup> ) u lumenu bubrežnih tubula pacova žrtvovanih posle 24 sata .....	85
<b>Tabela 12.</b> Morfometrijska analiza površina nekroze bubrežnih tubula (%) pacova žrtvovanih posle 8 sati .....	86
<b>Tabela 13.</b> Morfometrijska analiza površina nekroze bubrežnih tubula (%) pacova žrtvovanih posle 24 sata .....	87

<b>Tabela 14.</b> Vrednosti biohemijskih parametara u krvi pacova u sredini sa temperaturom 12°C žrtvovanih posle 8 sati .....	89
<b>Tabela 15.</b> Vrednosti biohemijskih parametara u krvi pacova u sredini sa temperaturom 22°C žrtvovanih posle 8 sati .....	90
<b>Tabela 16.</b> Vrednosti biohemijskih parametara u krvi pacova u sredini sa temperaturom 32°C žrtvovanih posle 8 sati .....	91
<b>Tabela 17.</b> Vrednosti biohemijskih parametara u krvi pacova u sredini sa temperaturom 12°C žrtvovanih posle 24 sata .....	92
<b>Tabela 18.</b> Vrednosti biohemijskih parametara u krvi pacova u sredini sa temperaturom 22°C žrtvovanih posle 24 sata .....	93
<b>Tabela 19.</b> Vrednosti biohemijskih parametara u krvi pacova u sredini sa temperaturom 32°C žrtvovanih posle 24 sata .....	94
<b>Tabela 20.</b> Odnos između vrednosti biohemijskih parametara u krvi pacova .....	95
<b>Tabela 21.</b> Odnos između vrednosti biohemijskih parametara u krvi pacova .....	96
<b>Tabela 22.</b> Povezanost između patohistoloških promena (intersticijalni edem i nekroza bubrežnih tubula) u bubrezima i vrednosti biohemijskih parametara u krvi pacova .... .....	99
<b>Tabela 23.</b> Patohistološke promena u bubrezima humanih kadavera .....	101
<b>Tabela 24.</b> Morfometrijska analiza patohistoloških promena u bubrezima humanih kadavera ..... .....	104
<b>Tabela 25.</b> Vrednosti biohemijskih parametara u krvi humanih kadavera .....	106
<b>Tabela 26.</b> Vrednosti biohemijskih parametara u krvi humanih kadavera .....	106

## LISTA GRAFIKONA

- Grafikon 1.** Vrste i procentualna zastupljenost patohistoloških promena u bubrezima pacova u kontrolnoj grupi u sredini sa temperaturom 12°C žrtvovanih posle 8 sati ..... 54
- Grafikon 2.** Broj ustanovljenih različitih patohistoloških promena i procentualna zastupljenost pacova sa tim promenama u kontrolnoj grupi u sredini sa temperaturom od 12°C žrtvovanih posle 8 sati ..... 54
- Grafikon 3.** Vrste i procentualna zastupljenost patohistoloških promena u bubrezima pacova u eksperimentalnoj grupi (20 mg/kg MDMA) u sredini sa temperaturom 12°C žrtvovanih posle 8 sati ..... 55
- Grafikon 4.** Broj ustanovljenih različitih patohistoloških promena i procentualna zastupljenost pacova sa tim promenama u eksperimentalnoj grupi (20 mg/kg MDMA) u sredini sa temperaturom 12°C žrtvovanih posle 8 sati ..... 55
- Grafikon 5.** Vrste i procentualna zastupljenost patohistoloških promena u bubrezima pacova u eksperimentalnoj grupi (40 mg/kg MDMA) u sredini sa temperaturom 12°C žrtvovani posle 8 sati ..... 56
- Grafikon 6.** Broj ustanovljenih različitih patohistoloških promena i procentualna zastupljenost pacova sa tim promenama u eksperimentalnoj grupi (40 mg/kg MDMA) u sredini sa temperaturom 12°C žrtvovanih posle 8 sati ..... 56
- Grafikon 7.** Vrste i procentualna zastupljenost patohistoloških promena u bubrezima pacova u kontrolnoj grupi u sredini sa temperaturom 22°C žrtvovani posle 8 sati ..... 57
- Grafikon 8.** Broj ustanovljenih različitih patohistoloških promena i procentualna zastupljenost pacova sa tim promenama u kontrolnoj grupi u sredini sa temperaturom 22°C žrtvovanih posle 8 sati ..... 57
- Grafikon 9.** Vrste i procentualna zastupljenost patohistoloških promena u bubrezima pacova u eksperimentalnoj grupi (20 mg/kg MDMA) u sredini sa temperaturom 22°C žrtvovanih posle 8 sati ..... 58
- Grafikon 10.** Broj ustanovljenih različitih patohistoloških promena i procentualna zastupljenost pacova sa tim promenama u eksperimentalnoj grupi (20 mg/kg MDMA) u sredini sa temperaturom 22°C žrtvovanih posle 8 sati ..... 58

- Grafikon 11.** Vrste i procentualna zastupljenost patohistoloških promena u bubrezima pacova u eksperimentalnoj grupi (40 mg/kg MDMA) u sredini sa temperaturom 22°C žrtvovanih posle 8 sati ..... 59
- Grafikon 12.** Broj različitih patohistoloških promena i procentualna zastupljenost pacova sa tim promenama u eksperimentalnoj grupi (40 mg/kg MDMA) u sredini sa temperaturom 22°C žrtvovanih posle 8 sati ..... 59
- Grafikon 13.** Vrste i procentualna zastupljenost patohistoloških promena u bubrezima pacova u kontrolnoj grupi u sredini sa temperaturom 32°C žrtvovanih posle 8 sati ..... 60
- Grafikon 14.** Broj različitih patohistoloških promena i procentualna zastupljenost pacova sa tim promenama u kontrolnoj grupi u sredini sa temperaturom od 32°C žrtvovanih posle 8 sati ..... 60
- Grafikon 15.** Vrste i procentualna zastupljenost patohistoloških promena u bubrezima pacova u eksperimentalnoj grupi (20 mg/kg MDMA) u sredini sa temperaturom 32°C žrtvovanih posle 8 sati ..... 61
- Grafikon 16.** Broj različitih patohistoloških promena i procentualna zastupljenost pacova sa tim promenama u eksperimentalnoj grupi (20 mg/kg MDMA) u sredini sa temperaturom 32°C žrtvovanih posle 8 sati ..... 61
- Grafikon 17.** Vrste i procentualna zastupljenost patohistoloških promena u bubrezima pacova u eksperimentalnoj grupi (40 mg/kg MDMA) u sredini sa temperaturom 32°C žrtvovanih posle 8 sati ..... 62
- Grafikon 18.** Broj različitih patohistoloških promena i procentualna zastupljenost pacova sa tim promenama u eksperimentalnoj grupi (40 mg/kg MDMA) u sredini sa temperaturom 32°C žrtvovanih posle 8 sati ..... 62
- Grafikon 19.** Vrste i procentualna zastupljenost patohistoloških promena u bubrezima pacova u kontrolnoj grupi u sredini sa temperaturom 12°C žrtvovanih posle 24 sata ..... 63
- Grafikon 20.** Broj različitih patohistoloških promena i procentualna zastupljenost pacova sa tim promenama u kontrolnoj grupi u sredini sa temperaturom 12°C žrtvovanih posle 24 sata ..... 63
- Grafikon 21.** Vrste i procentualna zastupljenost patohistoloških promena u bubrezima pacova u eksperimentalnoj grupi (20 mg/kg MDMA) u sredini sa temperaturom 12°C žrtvovanih posle 24 sata ..... 64

- Grafikon 22.** Broj različitih patohistoloških promena i procentualna zastupljenost pacova sa tim promenama u eksperimentalnoj grupi (20 mg/kg MDMA) u sredini sa temperaturom 12°C žrtvovanih posle 24 sata ..... 64
- Grafikon 23.** Vrste i procentualna zastupljenost patohistoloških promena u bubrezima pacova u eksperimentalnoj grupi (40 mg/kg MDMA) u sredini sa temperaturom 12°C žrtvovanih posle 24 sata ..... 65
- Grafikon 24.** Broj različitih patohistoloških promena i procentualna zastupljenost pacova sa tim promenama u eksperimentalnoj grupi (40 mg/kg MDMA) u sredini sa temperaturom 12°C žrtvovanih posle 24 sata ..... 65
- Grafikon 25.** Vrste i procentualna zastupljenost patohistoloških promena u bubrezima pacova u kontrolnoj grupi u sredini sa temperaturom 22°C žrtvovanih posle 24 sata ..... 66
- Grafikon 26.** Broj različitih patohistoloških promena i procentualna zastupljenost pacova sa tim promenama u kontrolnoj grupi u sredini sa temperaturom 22°C žrtvovanih posle 24 sata ..... 66
- Grafikon 27.** Vrste i procentualna zastupljenost patohistoloških promena u bubrezima pacova u eksperimentalnoj grupi (20 mg/kg MDMA) u sredini sa temperaturom 22°C žrtvovanih posle 24 sata ..... 67
- Grafikon 28.** Broj različitih patohistoloških promena i procentualna zastupljenost pacova sa tim promenama u eksperimentalnoj grupi (20 mg/kg MDMA) u sredini sa temperaturom 22°C žrtvovanih posle 24 sata ..... 67
- Grafikon 29.** Vrste i procentualna zastupljenost patohistoloških promena u bubrezima pacova u eksperimentalnoj grupi (40 mg/kg MDMA) u sredini sa temperaturom 22°C žrtvovanih posle 24 sata ..... 68
- Grafikon 30.** Broj različitih patohistoloških promena i procentualna zastupljenost pacova sa tim promenama u eksperimentalnoj grupi (40 mg/kg MDMA) u sredini sa temperaturom 22°C žrtvovanih posle 24 sata ..... 68
- Grafikon 31.** Vrste i procentualna zastupljenost patohistoloških promena u bubrezima pacova u kontrolnoj grupi u sredini sa temperaturom 32°C žrtvovanih posle 24 sata ..... 69
- Grafikon 32.** Broj različitih patohistoloških promena i procentualna zastupljenost pacova sa tim promenama u kontrolnoj grupi u sredini sa temperaturom 32°C žrtvovanih posle 24 sata ..... 69

- Grafikon 33.** Vrste i procentualna zastupljenost patohistoloških promena u bubrezima pacova u eksperimentalnoj grupi (20 mg/kg MDMA) u sredini sa temperaturom 32°C žrtvovanih posle 24 sata ..... 70
- Grafikon 34.** Broj različitih patohistoloških promena i procentualna zastupljenost pacova sa tim promenama eksperimentalnoj grupi (20 mg/kg MDMA) u sredini sa temperaturom 32°C žrtvovanih posle 24 sata ..... 70
- Grafikon 35.** Vrste i procentualna zastupljenost patohistoloških promena u bubrezima pacova u eksperimentalnoj grupi (40 mg/kg MDMA) u sredini sa temperaturom 32°C žrtvovanih posle 24 sata ..... 71
- Grafikon 36.** Broj različitih patohistoloških promena i procentualna zastupljenost pacova sa tim promenama u eksperimentalnoj grupi (40 mg/kg MDMA) u sredini sa temperaturom 32°C žrtvovanih posle 24 sata ..... 71
- Grafikon 37.** PAS bojenje uzoraka tkiva bubrega pacova u kontrolnoj grupi u sredini sa temperaturom 12°C žrtvovanih posle 8 sati ..... 72
- Grafikon 38.** PAS bojenje uzoraka tkiva bubrega pacova u eksperimentalnoj grupi (20 mg/kg MDMA) u sredini sa temperaturom 12°C žrtvovanih posle 8 sati ..... 73
- Grafikon 39.** PAS bojenje uzoraka tkiva bubrega pacova u eksperimentalnoj grupi (40 mg/kg MDMA) u sredini sa temperaturom 12°C žrtvovanih posle 8 sati ..... 73
- Grafikon 40.** PAS bojenje uzoraka tkiva bubrega pacova u kontrolnoj grupi u sredini sa temperaturom 22°C žrtvovanih posle 8 sati ..... 74
- Grafikon 41.** PAS bojenje uzoraka tkiva bubrega pacova u eksperimentalnoj grupi (20 mg/kg MDMA) u sredini sa temperaturom 22°C žrtvovanih posle 8 sati ..... 74
- Grafikon 42.** PAS bojenje uzoraka tkiva bubrega pacova u eksperimentalnoj grupi (40 mg/kg MDMA) u sredini sa temperaturom 22°C žrtvovanih posle 8 sati ..... 75
- Grafikon 43.** PAS bojenje uzoraka tkiva bubrega pacova u kontrolnoj grupi u sredini sa temperaturom 32°C žrtvovanih posle 8 sati ..... 75
- Grafikon 44.** PAS bojenje uzoraka tkiva bubrega pacova u eksperimentalnoj grupi (20 mg/kg MDMA) u sredini sa temperaturom 32°C žrtvovanih posle 8 sati ..... 76
- Grafikon 45.** PAS bojenje uzoraka tkiva bubrega pacova u eksperimentalnoj grupi (40 mg/kg MDMA) u sredini sa temperaturom 32°C žrtvovanih posle 8 sati ..... 76

<b>Grafikon 46.</b> PAS bojenje uzoraka tkiva bubrega pacova u kontrolnoj grupi u sredini sa temperaturom 12°C žrtvovanih posle 24 sata .....	77
<b>Grafikon 47.</b> PAS bojenje uzoraka tkiva bubrega pacova u eksperimentalnoj grupi (20 mg/kg MDMA) u sredini sa temperaturom 12°C žrtvovanih posle 24 sata .....	77
<b>Grafikon 48.</b> PAS bojenje uzoraka tkiva bubrega pacova u eksperimentalnoj grupi (40 mg/kg MDMA) u sredini sa temperaturom 12°C žrtvovanih posle 24 sata .....	78
<b>Grafikon 49.</b> PAS bojenje uzoraka tkiva bubrega pacova u kontrolnoj grupi u sredini sa temperaturom 22°C žrtvovanih posle 24 sata .....	78
<b>Grafikon 50.</b> PAS bojenje uzoraka tkiva bubrega pacova u eksperimentalnoj grupi (20 mg/kg MDMA) u sredini sa temperaturom 22°C žrtvovanih posle 24 sata .....	79
<b>Grafikon 51.</b> PAS bojenje uzoraka tkiva bubrega pacova u eksperimentalnoj grupi (40 mg/kg MDMA) u sredini sa temperaturom 22°C žrtvovanih posle 24 sata .....	79
<b>Grafikon 52.</b> PAS bojenje uzoraka tkiva bubrega pacova u kontrolnoj grupi u sredini sa temperaturom 32°C žrtvovanih posle 24 sata .....	80
<b>Grafikon 53.</b> PAS bojenje uzoraka tkiva bubrega pacova u eksperimentalnoj grupi (20 mg/kg MDMA) u sredini sa temperaturom 32°C žrtvovanih posle 24 sata .....	80
<b>Grafikon 54.</b> PAS bojenje uzoraka tkiva bubrega pacova u eksperimentalnoj grupi (40 mg/kg MDMA) u sredini sa temperaturom 32°C žrtvovanih posle 24 sata .....	81
<b>Grafikon 55.</b> Polna struktura humanih kadavera umrlih usled trovanja letalnim dozama MDMA .....	100
<b>Grafikon 56.</b> Vrste patohistoloških promena i njihova procentualna zastupljenost u bubrezima humanih kadavera .....	102



# LISTA SKRAĆENICA

## A

ADHA (engl. Attention Deficit Hyperactivity Disorder) - hiperaktivni poremećaj deficita pažnje

ALT - alanin aminotransferaza

AMPH - amfetamin

AST - aspartat aminotransferaza

## C

CK - kreatin kinaza

$C_{\max}$  - maksimalna koncentracija u plazmi

COMT (engl. Catechol-O- Methyltransferase) - katehol-O-metiltransferaza

## D

DA - dopamin

DAT (engl. Dopamine transporter) - membranski prenosnik dopamina

DHEA - dehidroepiandrosteron

DOPAC - dihidroksifenilacetatna kiselina

## E

Euro-DEN (engl. European Drug Emergencies Network) - Evropska mreža za hitne situacije vezane za drogu

## G

GGT - gama glutamiltransferaza

## **H**

H&E - hematoksilin i eozin

HHMA - 3,4-dihidroksimetamfetamin

HMA - 4-hidroksi-3-metoksiamfetamin

HMMA - 4-hidroksi-3-metoksimetamfetamin

5-HT - 5-hidroksitriptamin

## **L**

LDH - laktat dehidrogenaza

LSD - dietilamid lizergična kiselina

## **M**

MAO - monoaminooksidaza

MDA - 3,4-metilendioksiamfetamin

MDMA - 3,4 metilendioksimetamfetamin

METH - N-metilamfetamin (metamfetamin)

## **N**

NA - norepinefrin (noradrenalin)

NE - norepinefrin

NET (engl. Norepinephrine transporter) - membranski prenosnik norepinefrina (noradrenalina)

N-Me- $\alpha$ -MeDA - katehol N-metil- $\alpha$ -metildopamin

## **O**

OTC (engl. Over the Counter) - lekovi za čije izdavanje nije potreban lekarski recept

## **P**

PAS Periodic Acid Schiff (PAS) - McManus

PCP - fenilcikloheksilpiperidin

PTSP - post traumatski stresni poremećaj

## **S**

SER - serotonin

SERT ili 5-HTT (engl. Serotonin transporter) - membranski prenosnik serotonina

## **U**

U.S. FDA (engl. United States Food and Drug Administration) - Agencija za hranu i lekove Sjedinjenih Američkih Država

UCLA (engl. The University of California, Los Angeles) - Univerzitet u Kaliforniji, Los Angeles

UNODC (engl. United Nations Office on Drugs and Crime) - Kancelarije Ujedinjenih Nacija za droge i kriminal

## **V**

Vd - volumen distribucije

VMAT - vezikula preko vezikularnog monoaminskog transportera

# 1. UVOD

## 1.1. PSIHOAKTIVNE SUPSTANCE

Psihoaktivne supstance su supstance koje nakon konzumiranja imaju sposobnost da kod konzumenata dovedu do promene stanja svesti, raspoloženja i razmišljanja. Većina ovih supstanci može da dovede do pojave psihičke i/ili fizičke zavisnosti kod konzumenata, a smanjenje unešene doze ili prestanak konzumiranja dovodi do vrlo neprijatnih apsitetncijalnih znakova i simptoma, koje ponekad mogu biti i životno ugrožavajući (1). Prema izveštajima Kancelarije Ujedinjenih Nacija za droge i kriminal (*United Nations Office on Drugs and Crime - UNODC*) 2012. godine u svetu je bilo oko 243 miliona uživalaca droga, što predstavlja preko 5% svetske populacije, životne dobi od 15 do 64 godina, koji su prvenstveno konzumirali kanabis, opioide, kokain ili amfetamine. Od navedenog broja, smatra se da je oko 27 miliona ljudi zavisno od psihoaktivnih supstanci (2).

Zbog svojih medicinskih, ekonomskih i društvenih posledica zavisnost od psihoaktivnih supstanci je u velikom broju zemalja problem od nacionalnog značaja. Zloupotreba psihoaktivnih supstanci je pojava karakteristična za sva vremena i društva. U današnje vreme ona poprima epidemijski karakter i po svojoj učestalosti i posledicama u mnogim zemljama ima ozbiljne posledice, ne samo po zdravlje nacije nego i na povećanje stope kriminaliteta, delikvencije, nezaposlenosti, prostitucije, siromaštva, teških poremećaja porodičnih odnosa i dr. (3).

Novije podele psihoaktivnih supstanci zasnivaju se na osnovu dejstva droga na centralni nervni sistem. Postoje droge koje snižavaju nivo funkcionisanja delova mozga ili mozga u celini - depresori centralnog nervnog sistema, kao što su alkohol, sedativi, opioidi (morfijum, opijum, heroin) i isparljivi rastvarači (lepak, bronza, benzin), kao i one koje privremeno ubrzavaju psihičko funkcionisanje - stimulansi centralnog nervnog sistema i tu spadaju amfetamini, kofein, nikotin, kokain, fenciklidin (PCP). Halucinogeni predstavljaju posebnu grupu droga, koje menjaju strukturu mentalnog funkcionisanja, kojoj pripadaju dietilamid lizergična kiselina (LSD), meskalin, kanabis, psilocibin, 3,4-metilendioksimetamfetamin (MDMA), popularno nazvan „ekstazi“ (4).

## 1.2. REKREATIVNE DROGE

Rekreativne droge su hemijske supstance, koje se koriste za postizanje užitka i konzumentu pružaju (lažni) osećaj poboljšanja kvaliteta života i sigurnosti. One mogu dovesti do zavisnosti, zdravstvenih i socijalnih problema. Konzumiranje i promet većine ovih droga (izuzev etanola,

nikotina i kofeina) u većini zemalja je ilegalna, pa njihova upotreba, pored negativnih dejstava na zdravlje, dovodi i do sukoba sa zakonom (5).

Prema izveštaju Evropskog centra za monitoring droga i zavisnosti od droga (*European Monitoring Centre for Drugs and Drug Addiction - EMCDDA*) iz 2017. godine rekreativna upotreba psihoaktivnih supstanci je bila veoma prisutna u Evropi. Oko 80 miliona ljudi životne dobi od 15 do 64 godina, odnosno gotovo svaki četvrti stanovnik evropske populacije, je najmanje jedanput u životu konzumirao neku od zakonom zabranjenih rekreativnih droga (6). Najčešće konzumirane supstance su kanabis, kokain, amfetamini i MDMA. (7). Rezultati projekta Evropske mreže za hitne situacije vezane za upotrebu droge (*European Drug Emergencies Network - Euro-DEN*) su pokazali da je čak 64% pacijenata zbrinutih u nekom od urgentnih centara bio zbog zloupotrebe neke od rekreativnih droga. Studija je takođe pokazala da su među najčešće konzumiranim supstancama bili heroin (15,4%), kokain (11%), kanabis (10,4%) i amfetamini (6,8%) (8). U jednogodišnjoj studiji slučajeva koja je realizovana u urgentnoj jedinici Univerzitetske bolnice u Bazelu, Švajcarska je ustanovljeno da je 0,41% od svih zbrinutih hitnih slučajeva bilo zbog akutnog trovanja nekom od rekreativnih droga. Prosečno životno doba ovih pacijenata je bila 33 godine, a oko 2/3 ukupno zbrinutih (oko 73%) su bile osobe muškog pola. Najčešće korišćene supstance su bile kokain (33%), kanabis (32%) i heroin (14%), a najčešće analitički detektovane supstance su bile kanabis (33%), kokain (27%) i metadon (19%). Teške komplikacije, uključujući i dva smrtna ishoda, podrazumevale su infarkt miokarda kod dva pacijenta, epileptični napad kod 13 pacijenata i psihozu kod 6 pacijenata. Oko 2/3 pacijenata (76%) je nakon tretmana u urgentnoj jedinici otpušteno kući, dok je 10% zahtevalo tretman u jedinici intenzivne nege (7).

### 1.3. DIZAJNIRANE DROGE

U novije vreme od strane Kancelarije Ujedinjenih Nacija za droge i kriminal (*United Nations Office on Drugs and Crime - UNODC*) su prepoznate „nove psihoaktivne supstance“, koje mogu predstavljati pretnju po javno zdravlje. Do sada je prijavljeno više od 600 različitih supstanci. Na tržištu su nove psihoaktivne supstance poznate kao „dizajnirane droge“, „istraživačke hemikalije“, „soli za kupanje“ (9).

„Nove psihoaktivne supstance“ ili „dizajnirane droge“ su analozi ili hemijski derivati kontrolisanih supstanci napravljene da proizvode efekte slične kontrolisanim supstancama koje imitiraju. Za razliku od klasičnih nedozvoljenih droga - „ulične droge“, nove psihoaktivne supstance se obično prodaju putem interneta - „internet droge“. Ove supstance se označavaju kao „hemikalije za istraživanje“, „soli za kupanje“, „biljna hrana“, najčešće sa oznakom „nisu za ljudsku upotrebu“. Potpuno sintetičke droge se uglavnom proizvode u Kini i Jugoistočnoj Aziji i

prodaju širom sveta od strane brojnih prodavaca na internetu, često kao jeftinije zamene klasičnih stimulansa ili narkotika (10).

Nove psihoaktivne supstance mogu se klasifikovati na osnovu njihovih psihotropnih efekata kao stimulansi, empatogeni/entaktogeni i halucinogeni - 3,4-metilendioksimetamfetamin (MDMA, ekstazi) ili prema njihovoj hemijskoj porodici kao fenetilamini, amfetamini, katinoni, piperazini, pipradroli/piperidini, aminoindani, benzofurani i triptamini (11).

„Dizajnirane droge“ su supstance sa psihotropnim efektima koje se distribuiraju za upotrebu u rekreativne svrhe, korišćenjem neadekvatnosti postojećeg zakonodavstva o kontrolisanim supstancama. Ove droge najčešće upotrebljavaju mladi ljudi životne dobi između 20 i 40 godina (12).

## 1.4. AMFETAMINI

### 1.4.1. Opšte karakteristike

Amfetamini (AMPH) su psihoaktivne supstance iz grupe feniletilamina. Imaju fenilni prsten, dvostruki ugljenični lanac između fenil prstena i azota,  $\alpha$ -metil grupu i primarnu amino grupu (13, 14). Njihova struktura je veoma slična strukturi endogenih neurotransmitera dopaminu i serotoninu. Zbog njihove strukturne sličnosti, amfetamini mogu da stimulišu simpatički nervni sistem i izazovu osećaj poboljšanja raspoloženja, budnost, euforiju, anksioznost, paranoidno ponašanje, razdražljivost, nesanicu i umor. Oni se koriste u lečenju hiperaktivnog poremećaja deficita pažnje (*Attention Deficit Hyperactivity Disorder - ADHD*) kod dece, narkolepsije, gojaznosti i depresija rezistentnih na lečenje. Amfetamini se nalaze na Listi II kontrolisanih supstanci (15). Pored amfetamina, metamfetamin (METH) i 3,4-metilendioksimetamfetamin (MDMA) su široko zloupotrebljavane sintetičke droge slične amfetaminu, koje u osnovnoj hemijskoj strukturi imaju feniletilamin (16).

### 1.4.2. Istorijat

Ljudi su hiljadama godina koristili prirodna jedinjenja slična amfetaminima konzumiranjem biljaka lat. *Catha edulis* i biljaka roda lat. *Ephedra* (porodica lat. *Ephedraceae*), među kojima je najčešća lat. *Ephedra sinica*. Žvakanje svežeg lišća ovih biljaka je široko rasprostranjena navika u lokalnoj populaciji Istočne Afrike i Arapskog poluostrva. Konzumenti ovih biljaka navode da imaju povećani nivo energije, budnosti, samopoštovanja, osećaja ushićenja, povećane imaginativne sposobnosti. Biljka *Ephedra*, koja ima stimulativna svojstva je jedna od

najstarijih poznatih lekovitih biljaka, a koristi se u tradicionalnoj kineskoj medicini više od 5000 godina za lečenje astme i prehlade (17).

Amfetamin je prvi put sintetizovao rumunski hemičar Lazar Edeleanu u Nemačkoj 1887. godine (18). Njegova medicinska upotreba i masovna sinteza započeta je dvadesetih godina prošlog veka kada je otkriveno da deluje bronhodilatatorno, te se koristio u terapiji astme, polenske kijavice i prehlade. Ubrzo postaje dostupan kao OTC preparat u obliku tableta, koji se koristio za lečenje depresije, epilepsije, gojavnosti, narkolepsije, impotencije. Masovna upotreba amfetamina je zabeležena tokom Drugog svetskog rata, tokom kojeg su vojnicima, na različitim zaraćenim stranama, davani amfetaminski preparati kako bi se produžila budnost i povećala opšta psihomotorna izdržljivost. Zloupotreba amfetamina nastavljena je i nakon Drugog svetskog rata. Piloti, profesionalni vozači, studenti, sportisti i mnogi drugi u potrazi za dodatnim izvorom snage i energije su koristili tablete amfetamina, što je dovelo do pojave stotina hiljada slučajeva sa amfetaminskom psihozom. Danas se amfetamini u medicini koriste isključivo za lečenje hiperaktivnog poremećaja pažnje kod dece i narkolepsije (19).

Dvadesetih godina XX veka postojala je zabrinutost da li će količine prirodnog efedrina da zadovolje potrebe za lečenjem obolelih od astme. Zbog toga je u mnogim laboratorijama u celom svetu pokušavano da se sintetski proizvede efedrin. Gordon Aples, diplomirani student Kalifornijskog univerziteta u Los Anđelesu (*University of California, Los Angeles*) je dobio zadatak da proizvede sintetski efedrin. Aples nije uspeo da proizvede, ali je proizveo molekul nazvan fenilizopropilamin, kasnije nazvan dekstroamfetamin. U početku je ovu supstancu davao eksperimentalnim životinjama, a kada je ustanovio da ova supstanca pokazuje malo toksičnih svojstava, počeo je i sam da konzumira. Ustanovio je da ova supstanca utiče na promenu raspoloženja. Japanski hemičar Akiro Ogata je takođe pokušavao da proizvede sintetski efedrin, ali je na kraju proizveo amfetamin d-fenil-izopropilmetilamin hidrohlorid, kasnije poznat kao metamfetamin (20).

### 1.4.3. Farmakologija

Amfetamini deluju kao supstrati za membranske prenosnike noradrenalina (NET), dopamina (DAT) i serotonina (5-HTT), zbog strukturne sličnosti sa monoaminskim neurotransmiterima, noradrenalinom (NA), dopaminom (DA) i serotoninom (5- hidroksitriptamin 5-HT). Time se smanjuje unos endogenih neurotransmitera u citoplazmu i favorizuje reverzni transport endogenih neurotransmitera u sinaptičku pukotinu, što rezultira neeksocitotičkim otpuštanjem neurotransmitera. Amfetamini takođe mogu da povećaju koncentracije citoplazmatskog transmitera oslobađanjem DA i 5-HT iz skladišnih vezikula preko vezikularnog monoaminskog transportera (VMAT), dok istovremeno sprečavaju unos u vezikule, čineći neurotransmitere lakšim za reverzni transport. Iako AMPH i njegovi analozi pokazuju slične

aktivnosti na nekoliko transportera, njegov glavni mehanizam delovanja je na DAT, povećanjem oslobađanja DA iz završetaka presinaptičkih nerava (21). AMPH ulazi u ćeliju dejstvom na DA završetke preko DAT, koji je najčešći put ili lipofilnom difuzijom kroz plazmatsku membranu, koja je efikasna samo pri višim koncentracijama AMPH. Prisustvo  $\alpha$ -metil grupe dovodi do povećane sposobnosti prolaska membrane, zbog svoje amfipatske prirode. Štaviše, struktura AMPH sprečava sposobnost enzima monoaminoksidaze (MAO) da oksidira svoju aminsku grupu prisustvom  $\alpha$ -metil grupe u svojoj hemijskoj strukturi (13).

U normalnim uslovima DA metaboliše u 3,4-dihidroksifenilsirćetnu kiselinu (DOPAC) pomoću MAO. AMPH takođe utiče na DA-metaboličke puteve, smanjujući nivo DOPAC, kao rezultat AMPH-indukovane MAO inhibicije, čime se produžava monoaminergični prenos (22).

#### 1.4.4. Način unošenja u organizam i farmakokinetika

Jedinjenja amfetaminskog tipa se najčešće unose u organizam peroralno u obliku tableta, ali se mogu takođe unositi u organizam i intravenski ili ušmrkivanjem praha. Amfetamini se najčešće nalaze u obliku tableta, različitih boja, oblika i veličina, često sa različitim vrstama utisnutih oznaka i simbola na površini. Raznolikost je prisutna kada je u pitanju sastav i sadržaj pojedinih aktivnih komponenti. Toksikološko - hemijske analize tableta pokazuju da se sadržaj aktivnih supstanci u tabletama kreće od 50 do 150 mg i mogu biti monokomponentne tablete ili u kombinaciji različitih supstanci amfetaminskog tipa. Amfetamini se brzo resorbuju iz gastrointestinalnog trakta. Nakon oralne primene maksimalne koncentracije u plazmi se postižu za oko dva časa, dok je poluvreme eliminacije od 12 do 24 časa (14).

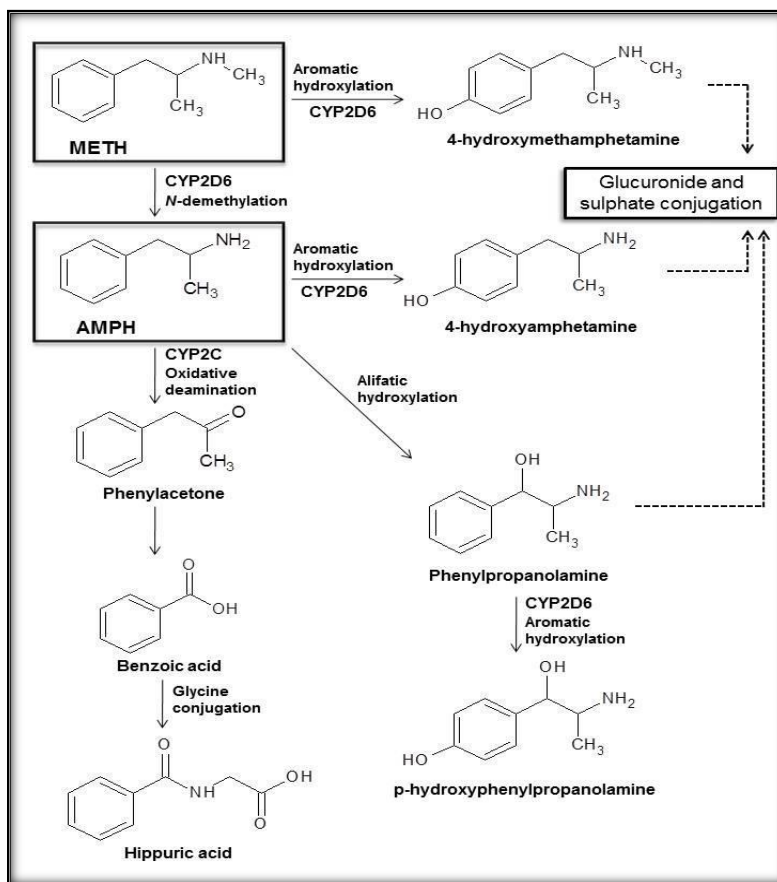
Amfetamini su slabe baze pH vrednosti 9,9 i niske molekulske mase sa dobrom bioraspoloživostu nakon oralnog unosa, visokim volumenom distribucije ( $V_d$ ) oko 4 L/kg i niskim stepenom vezivanja za proteine plazme (manje od 20%). Ova svojstva im omogućavaju laku difuziju kroz ćelijske membrane u ekstracelularni prostor i tkiva. Amfetamini mogu biti S(+) - enantiomer (d-AMPH) ili kao racematska smeša (13).

Pizarro i saradnici su vršili istraživanje na 17 zdravih osoba, kojima su aplikovane četiri različite doze d-AMPH (25 mg, 30 mg, 35 mg i 40 mg). Nakon aplikacije AMPH otkrili su da je maksimalna koncentracija u plazmi ( $C_{max}$ ) bila 2 - 3 časa nakon aplikacije. Poređenjem vrednosti koncentracija AMPH u plazmi u odnosu na vreme tokom 24 časa i maksimalne koncentracije u plazmi u rasponu primenjenih doza, istraživači su zaključili da se koncentracije AMPH u plazmi mogu lako predvideti, jer su promene koncentracije linearne (23). Istraživanja koja su radili Carvahó i saradnici su pokazala da se maksimalna koncentracija AMPH u plazmi ( $C_{max}$ ) postiže oko četiri časa nakon aplikacije i da je tokom 24 časa ona proporcionalna aplikovanoj dozi, povećavajući se zavisno od doze (13).



Razlike u hemijskoj strukturi pojedinih jedinjenja amfetaminskog tipa dovode i do razlika u njihovom metabolizmu (24). Amfetamini se uglavnom metabolisu u jetri pomoću nekoliko enzima. Glavni metabolički putevi amfetamina su:

- (1) N-deaminacija do fenilacetona, koji se oksidacijom konvertuje u benzojevu kiselinu, nakon čega sledi konjugacija sa glicinom do hipurne kiseline, koja se izlučuje urinom.
- (2) Aromatična hidroksilacija u poziciji četiri u prstenu, što rezultira nastankom 4-hidroksiamfetamina i dalje konjugacija fenolne grupe sa sulfatom ili glukuronskom kiselinom se u toku aromatične hidroksilacije takođe može konvertovati u reaktivni intermedijer, koji će reagovati sa glutationom stvarajući glutation-S-ylp-hidroksiamfetamin (Slika 1) (24, 25, 26).



Slika 1. Glavni metabolički putevi amfetamina (AMPH) i metamfetamina (METH). (Preuzeto iz: Teixeira Gomes A. Brain and peripheral organ toxicity of “ecstasy” in adolescent rats in human relevant doses [dissertation]. Porto: University of Porto; 2014.)

U in vitro studijama dokazano je da je N-deaminacija katalizovana izoenzimima CIP subfamilije CIP2C, a da je hidroksilacija aromatičnog prstena katalizovana enzimom CIP2D6 (27). Oksidacija na  $\beta$ -ugljeniku bočnog lanca (alifatska hidroksilacija) je metabolički put, koji dovodi do formiranja norefedrina (stereoizomera fenilpropanolamina), nakon čega sledi oksidacija u aromatičnom prstenu do hidroksinorefedrina (28).

Poluživot amfetamina u plazmi u velikoj meri zavisi od pH urina, jer je glavni put eliminacije amfetamina renalna ekskrecija. Renalna ekskrecija amfetamina se povećava zakiseljavanjem, a smanjuje alkalizacijom urina. Iz tog razloga, neki konzumenti amfetamina koriste bikarbonate, da bi produžili poluživot amfetamina u plazmi i njegov efekat na organizam. Poluvreme eliminacije amfetamina je duže kod korisnika koji su zavisnici od AMPH i METH i kod osoba sa alkalnim urinom. Istraživanja su pokazala da se oko 35% - 44% AMPH izlučuje tokom 24 sata (21).

### 1.5. 3,4-METILENDIOKSIMETAMFETAMIN (MDMA) - „ECSTASY“

#### 1.5.1. Istorijat

Supstancu 3,4-metilendioksimetamfetamin (MDMA) je prvi sintetisao hemičar Anton Kolisch 1912. godine u laboratoriji u Nemačkoj. On je 1914. godine patent dao nemačkoj hemijskoj kompaniji Merck iz Darmštadta, ali se on nikada nije proizvodio za komercijalnu kliničku upotrebu (29). Smatra se da je MDMA prvobitno patentiran kao sredstvo za suzbijanje apetita. Međutim on je zapravo patentiran kao prekursor za terapijski aktivna jedinjenja i nikada nije bio upotrebljen kao lek za anoreksiju (30).

MDMA je prvi put 1953. godine vojska Sjedinjenih Američkih Država ispitivala na laboratorijskim životinjama. Ovo istraživanje je bilo deo istraživanja efekta psihodeličnih droga na životinje i ljude. Aleksander Shulgin je 1976. godine otkrio psihoaktivni efekat MDMA i dve godine kasnije sa svojim kolegom David Nicholson publikovao studiju o tome (31). Sredinom 1980.-ih godina, počela je rekreativna upotreba MDMA, što je uključivalo empirijske studije koje su istraživale fiziološke, psihobiološke i psihijatrijske efekte ovog leka (32). U to vreme je MDMA uveden kao lek u psihoterapiji, kao i u terapiji Parkinsonove bolesti, posttraumatskog stresnog poremećaja (PTSP), depresije, autizma (33). Postojala su kontraverzna mišljenja o terapijskom efektu MDMA. Agencija za hranu i lekove Sjedinjenih Američkih Država (*United States Food and Drug Administration - USFDA*) je 1990.-ih godina odobrila studiju za istraživanje MDMA u terapiji Parkinsonove bolesti. USFDA je 2002. godine odobrila studiju na ljudima u kojoj je korišćen MDMA u psihoterapiji posttraumatskog stresnog poremećaja (34).

Prvo kontrolisano kliničko istraživanje MDMA u psihoterapiji je objavljeno 2010. godine. Dvadeset pacijenata sa rezistentnim PTSP je bilo uključeno u istraživanje. Pacijenti u kontrolnoj grupi su dobijali placebo, a u eksperimentalnoj grupi dve doze MDMA (125 mg, nakon dva sata još 62,5 mg). Posle praćenja dva meseca 83% pacijenata iz eksperimentalne grupe više nisu ispunjavali kriterijume za PTSP u poređenju sa samo 25% pacijenata iz kontrolne grupe. Nije bilo ozbiljnih neželjeni događaji i nepovoljnih neurokognitivnih efekata (35). Dugoročno praćenje grupe uspešno tretiranih pacijenata je pokazalo da se remisija PTSP-a nije javila do šest godina (17 - 74 meseci), bez dodatnih doza MDMA (36).

Zatim su počeli timovi u SAD, Izraelu i Kanadi istraživanje uticaja MDMA na PTSP. Tim sa sedištem u Boulderu, Kolorado, SAD je sproveo drugu fazu istraživanja kod 28 ispitanika 2018. godine (37).

Jedna grupa ispitanika je dobijal doze od 100 mg i 125 mg MDMA, a druga grupa ispitanika dozu od 40 mg MDMA. Rezultati u prvom periodu istraživanja nisu bili statistički značajni, ali tokom praćenja u vremenskom periodu od 12 meseci rezultati su pokazali statističku značajnost između ove dve grupe ispitanika. MDMA kod ispitanika u ovom istraživanju nije izazivao neželjene efekte i ispitanici su dobro podnosili ovu supstancu. Dalja studija pokazala je uspešno lečenje PTSP-a kod ratnih veterana (38). Sve savremene studije psihoterapije uz pomoć MDMA su sprovedene kod relativno malog broja pacijenata.

Pošto je korišćenje MDMA uzelo velikog maha u rekreativnoj upotrebi u vidu tableta „ekstazi“, 1980. godine ova supstanca je stavljena na listu droga (39, 40, 41). MDMA je prvo počeo da se koristi, kao supstanca za uživanje u razvijenim zemljama Zapadne Evrope, Australiji, Kanadi i Sjedinjenim Američkim Državama. Prva masovna upotreba MDMA je bila u reju klubovima i na reju zabavama. MDMA je korišćen u 1970.-im i 1980.-im godinama, iako su korišćenje i proizvodnja bili zabranjeni. U kasnim 1990.-im godinama MDMA je u zemljama Zapadne Evrope i Velike Britanije doživeo veliku popularnost na reju zabavama (33). Korišćenje MDMA je u Velikoj Britaniji postalo ilegalno 1977. godine. MDMA je 1988. godine zabranjen za korišćenje i klasifikovan je u grupu kontrolisanih supstanci (42).

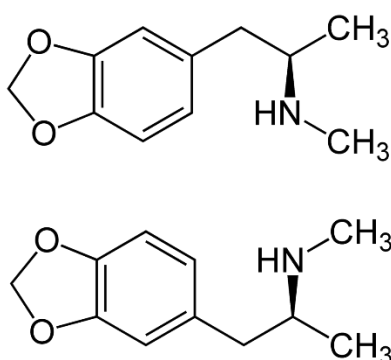
### 1.5.2. Epidemiologija zloupotrebe u svetu

Kancelarija Ujedinjenih nacija za droge i kriminal (*United Nations Office on Drugs and Crime - UNODC*) je objavila da je 19,4 miliona ljudi u svetu koristilo MDMA u 2014. godini (43). Ovaj broj se u 2015. godini povećao na 21,6 miliona ljudi što je svrstalo MDMA u jednu od najčešće korišćenih droga u svetu (44). U 2017. godini u Evropi se MDMA nalazio na trećem mestu po broju korisnika ilegalnih droga, iza kanabisa i kokaina. MDMA je koristilo oko 14 miliona ljudi, životnog doba od 15 do 64 godina, što je 4,2% ukupne svetske populacije ovog

životnog doba, a u populaciji od 15 do 34 godina MDMA je koristilo 2,3 miliona ljudi, što je 1,8% ukupne svetske populacije ovog životnog doba (6).

### 1.5.3. Farmakologija

MDMA je racematska smeša 3,4-metilendioksimetamfetamina (1-benzo [1,3] dioksol-5-N-metil-propan-2-amin), koja se sastoji od jednakih delova izomera S(+) i R(-). Molekulska masa MDMA je 193,242 g/mol. Hemijska formula MDMA je  $C_{11}H_{15}NO_2$ , a strukturna formula je (Slika 2).



Slika 2. Strukturna formula 3,4-metilendioksimetamfetamina (MDMA)

MDMA je po strukturi sličan 3,4-metilendioksiamfetaminu (MDA) i metamfetaminu (METH). Metamfetamin je osnovno bazna supstanca MDMA i MDA, koja sadrži supstituisani aromatični prsten i primarno deluje na serotoninske receptore, dok amfetamin kao bazna supstanca efedrina, fenilpropanolamina, fentermina ne sadrži supstituisani aromatični prsten i primarno deluje na dopaminske receptor. Enantiomeri MDMA S(+) i R(-) imaju različit farmakodinamski efekat. MDMA koji se koristi u terapijske svrhe ili kao sredstvo zloupotreba obično je racematska smeša (1:1) oba enantiomera. Enantiomer S(+) je jači inhibitor serotoniskih receptora od R(-) enatiomera (45).

MDMA je po fizičko - hemijskim karakteristikama praškasta supstanca, kristalnog izgleda, bele boje. Po hemijskom sastavu MDMA je slaba baza pH vrednosti 9 - 10. Tačka ključanja MDMA je na 105°C (221°F), a isparljivost je niska. Soli MDMA takođe nisu isparljive, ali su hidrosolubilna jedinjenja, koja se u organizam unose ušmrkavanjem, gutanjem ili intravenskim putem. Tačka ključanja 3,4-metilendioksimetamfetamin hidrohlorida je 148°C - 153°C (298°F - 307°F). Ova so je rastvorljiva u vodi, alkoholu i hloroformu (46).

MDMA je kao i drugi amfetamini indirektni agonist monoamina, koji indukuje oslobađanje NE, DA i 5-HT iz presinaptičkih završetaka u centralni i periferni nervni sistem. To rezultira interakcijom supstance sa membranskim transporterima, koji su uključeni u ponovnom unosu neurotransmitera (DAT, 5-HTT ili SERT, NET) i vezikularnom skladištenju VMAT-2. MDMA povratno deluje na membranske receptore olakšavajući oslobađanje NE, DA i 5-HT u presinaptičku pukotinu sa povećanom aktivacijom postsinaptičkih receptora. MDMA zavisno od doze dovodi do oslobađanja veće količine ekstracelularnog 5-HT i nešto manje DA. MDMA je slabiji inhibitor MAO i direktno deluje na nekoliko tipova receptora (5-HT<sub>2</sub>, M1 muskarinske,  $\alpha_2$  adrenergičke i histaminske H<sub>1</sub> receptore) (47).

#### 1.5.4. Farmakokinetika

##### 1.5.4.1. Resorpcija

MDMA u plazmi dostiže maksimalnu koncentraciju nakon 2,4 časa posle konzumiranja, bez obzira na dozu, koja je konzumirana (48). Ispitivanja farmakokinetike MDMA su uglavnom vršena kod oralnog i parenteralnog konzumiranja. Studije pokazuju da nakon jednokratnog oralnog konzumiranja MDMA u dozama od 50 mg, 75 mg, 100 mg, 125 mg ili 150 mg, maksimalnu koncentraciju u plazmi kod ljudi dostiže nakon 1,5 do 3 časova posle konzumiranja. Takođe studije pokazuju da prilikom konzumiranja MDMA u dozama od 50 mg, 75 mg, 100 mg i 125 mg tokom 24 časa maksimalne koncentracije u plazmi su se povećavale zavisno od doze. De la Torre i saradnici su u svom istraživanju ustanovili da prilikom konzumiranja veće doze od 150 mg, porast kinetičkih parametara MDMA nije bio proporcionalan dozi, što ukazuje na nelinearnu farmakokinetiku (49). Nelinearna farmakokinetika MDMA je potvrđena u istraživanjima kod ljudi i majmuna (50).

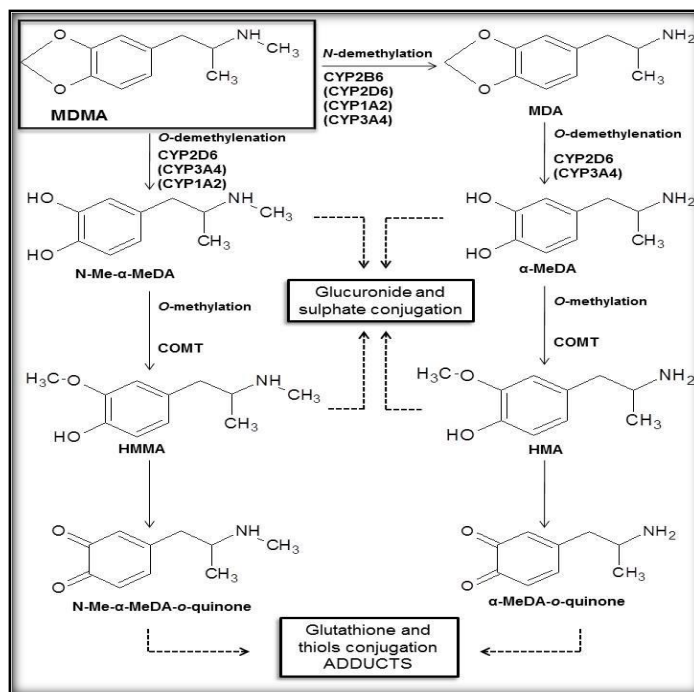
Farre i saradnici su u istraživanju sprovedenom na devet zdravih muškaraca ispitivali farmakokinetiku MDMA nakon oralnog konzumiranja 100 mg MDMA podeljenog u dve doze, u vremenskim razmakom od 24 časa. Ponovljeno konzumiranje MDMA dovelo je do nesrazmernog povećanja koncentracije u plazmi, koje je bilo veće od očekivanog jednostavnom akumulacijom ove supstance (51). Ovo je objašnjeno inhibicijskom interakcijom metabolita sa nekim enzimima, koji učestvuju u metabolizmu MDMA. Studije in vitro pokazuju da MDMA može delovati kao inhibitor citohroma P450 (CYP)2D6 putem mehanizma konkurentne interakcije i/ili formiranjem enzimskog metabolita kompleksa. MDMA koji se najčešće konzumira oralno se nalazi u obliku racematske smeše. Nakon oralne primene 40 mg racematske smeše MDMA ustanovljeno je da je maksimalna koncentracija u plazmi MDMA R(-) enantiomera značajno veća od maksimalne koncentracije MDMA S(+) enantiomera. Farmakološki aktivniji MDMA S(+) enantiomer se značajno brže eliminiše od MDMA R(-) enantiomera (51, 52).

### 1.5.4.2. Metabolizam

MDMA je racematska smeša dva enantiomera S(+) i R(-), koji imaju različite farmakodinamske karakteristike. MDMA S(+) enantiomer pokazuje izraženija psihotomimetička svojstva od MDMA R(-) enantiomera. Farmakokinetički parametri metabolizma ova dva enantiomera MDMA su vrlo kompleksni (53). Postoje dva metabolička puta MDMA:

(1) O-demetilenizacija metilendioksi grupe MDMA, što rezultira stvaranjem katehol N-metil- $\alpha$ -metildopamina (N-Me- $\alpha$ -MeDA) i 3,4-dihidroksimetamfetamina (HHMA). Ovaj put kod ljudi katalizuju enzimi CYP2D6, CYP3A4 i CYP1A2, a kod pacova izoenzimi CYP2D1 i CYP3A2. Nakon demetilenizacije sledi O-metilacija jedne od hidroksilnih grupa radi formiranja 4-hidroksi-3-metoksimetamfetamina (HMMA), koja je katalizovana enzimom katehol-O-metiltransferazom (COMT). Oba jedinjenja mogu biti konjugovana sa glukuronidom ili sulfatom.

(2) N-demetilenizacija MDMA u 3,4-metilendioksiamfetamin (MDA) katalizovana enzimima CYP2B6, CYP2D6, CYP1A2 i CYP3A4 kod ljudi, a kod pacova izoenzimima CYP1A2 i CYP2D1. Nakon ovog koraka sledi O-demetilenizacija do katehol  $\alpha$ -metildopamina ( $\alpha$ -MeDA) i 3,4-dihidroksiamfetamina (HHA), koju kod ljudi katalizuju enzimi CYP2D6 i CYP3A4, a kod pacova izoenzimi CYP2D1 i CYP3A2. Na kraju se  $\alpha$ -MeDA metiluje u 4-hidroksi-3-metoksiamfetamin (HMA) pomoću enzima COMT.  $\alpha$ -MeDA i HMA mogu biti konjugovani sa glukuronidom ili sulfatom (Slika 3) (54).



Slika 3. Glavni metabolički putevi 3,4-metilendioksimetamfetamina (MDMA, ekstazi) (Preuzeto iz: Teixeira Gomes A. Brain and peripheral organ toxicity of “ecstasy” in adolescent rats in human relevant doses [dissertation]. Porto: University of Porto; 2014.)

Ispitivanjem metabolizma supstanci zloupotrebe utvrđeno je da oba metabolita katehola (N-Me-α-MeDA i α-MeDA) mogu oksidirati u orto-kinone i konjugovati sa tiolima i aduktima koji potiču od glutationa (55). Formiranje ovih konjugata je dokazano u in vitro studiji u mikrosomima jetre ljudi (56). Konjugati nastaju u jetri, ali mogu se distribuirati i u druge organe, najčešće u mozak, što je pokazano u in vivo istraživanju u kome su merene koncentracije metabolita u mozgu pacova (57).

Metabolizam MDMA u organizmu čoveka nije linearan, jer koncentracije MDMA u plazmi niže od 125 - 200 ng/ml mogu inhibirati CYP2D6, tako da je jedna doza dovoljna da blokira jedan od metaboličkih puteva za MDMA (58). U mikrosomima jetre čoveka otkriveno je da takva inhibicija smanjuje proizvodnju metabolita HHMA za čak 75%. Jednokratna rekreativna doza MDMA može biti dovoljna da inaktivira većinu jetrenih CYP2D6. Doza od 1,5 mg/kg MDMA može da izazove brzu inhibiciju CYP2D6. Za uspostavljanje ponovne potpune aktivacije CYP2D6 potrebno je oko deset dana, a za uspostavljanje polovične aktivacije je CYP2D6 je potrebno oko dva dana. Zbog toga, druga doza MDMA uzeta posle nekoliko dana dovodi do veće toksičnosti usled povećane koncentracije MDMA u krvi, koja nastaje kao posledica smanjenih metaboličkih sposobnosti. Rietjens i saradnici smatraju da česti korisnici MDMA mogu trajno smanjiti aktivnost CYP2D6 (59). Kao posledica inhibicije CYP2D6 nastaje povećana količina MDMA za N-demetilaciju, što rezultira povećanim količinama metabolita 3,4-metilendioksiamfetamina (MDA).

Metabolizam MDA je usporen, kao i O-demetilenizacija koja je inhibirana, što izaziva nakupljanje još veće količine MDA, koji je biološki aktivan i deluje isto kao i MDMA, a takođe je i serotoninski neurotoksin (60). Inhibicija CIP2D6 ima za posledicu smanjenje koncentracije produkata metabolizma MDMA - HHMA i HMMA, čije koncentracije u plazmi ostaju iste i pored povećanja doza MDMA (48). Ova inhibicija CIP2D6 uzrokuje da usled malog povećanja doze MDMA, dolazi do velikog povećanja koncentracije MDMA u plazmi i mozgu, što pokazuje da je metabolizam MDMA nelinearnog karaktera (53). Stereohemija MDMA utiče na stereohemiju njenih metabolita. Enzimi koji su uključeni u metabolizam MDMA, posebno citohrom P450 su stereoselektivni (61).

Zbog varijacija gena koji kodiraju različite enzime jetre, koji učestvuju u metabolizmu MDMA, postoje razlike u metabolizmu MDMA kod ljudi. Gen koji kodira jetreni citohrom CIP2D6, koji učestvuje u reakciji demetilenizacije može sadržati čak 50 različitih alela (48). Smatra se da je aktivnost CIP2D6 kod ljudi veoma promenljiva. Na osnovu aktivnosti CIP2D6 ljudi se mogu klasifikovati kao ultrabrz, brzi, srednji ili spori metabolizatori MDMA (59). Ispitivanjem su utvrđene i određene varijacije u brzini metabolizma MDMA u odnosu na rasnu pripadnost. Kod 1,4% populacije crne rase metabolizam MDMA je spor, a kod 4,5% te populacije metabolizam MDMA je ultrabrz. Kod 5 - 10% populacije bele rase metabolizam MDMA je spor, a kod manje od 5% te populacije metabolizam MDMA je ultrabrz (48). Aktivnost COMT takođe pokazuje visoku varijabilnost kod ljudi različitih etničkih grupa. Ove razlike objašnjavaju studije o metabolizmu MDMA (62, 48). Ispitivanjem farmakokinetike MDMA je utvrđena i razlika u metabolizmu u odnosu na pol. Kolbrih i saradnici su u svom istraživanju ustanovili da je nakon konzumiranja „velikih doza“ MDMA, poluvreme eliminacije MDMA i MDA bilo statistički značajno duže kod žena, nego kod muškaraca (48).

#### 1.5.4.3. Eliminacija

MDMA se izlučuje putem bubrega u nepromenjenom obliku ili u obliku metabolita 3,4-metilendioksiamfetamina (MDA) ili slobodnog i glukuronisanog 4-hidroksi-3-metoximetamfetamina (HMMA) i 4-hidroksi-3-metoksimetamfetamina (HMA) (63). Količina izlučenog MDMA putem bubrega zavisi od unete doze MDMA u organizam i pH vrednosti urina (64). Izlučivanje MDMA urinom se smanjuje kada je pH vrednost urina alkalna. Promene pH vrednosti urina ne utiču značajno na poluvreme eliminacije MDMA, zbog relativno malog klirensa MDMA u urinu. Prosečno poluvreme eliminacije racematske smeše MDMA iz plazme, konzumirane kao rekreativne doze (oko 100 mg) je 7 - 8 časova (65). Poluvreme eliminacije enantiomera MDMA je različito i zavisi od unete doze u organizam. Eliminacija enantiomera S(+) je brža od eliminacije enantiomera R(-). U studiji Pizzara i saradnika ispitanici su konzumirali 100 mg racematske smeše MDMA. Praćena je srednja vrednost poluvremena eliminacije iz plazme oba enantiomera MDMA. Srednja vrednost poluvremena eliminacije iz plazme MDMA S(+)



enantiomera je bila 4,8 časova, a MDMA R(-) enantiomera 14,8 časova (66). U studiji u kojoj je učestvovalo osam ispitanika, koji su konzumirali 40 mg racematske smeše MDMA, poluvreme eliminacije iz plazme MDMA S(+) enantiomer je bilo 3,6 časova, a MDMA R(-) enantiomera je bilo 5,8 časova (67). Klirens MDMA u bubrežima je najčešće u rasponu 5 - 20 L/h. Klirens MDMA u jetri je daleko više varijabilan i najčešće je u rasponu 15 - 150 L/h (16). Glavni metaboliti koji se eliminišu putem urina su konjugati HMMA i oni čine oko 50% svih metabolita MDMA u urinu. Što je veća doza MDMA, to je koncentracija MDMA, koji se izlučuje urinom u nepromenjenom obliku veća (64). Studija u kojoj je analiziran urin kod deset ispitanika, koji su oralno konzumirali MDMA u dozama od 1 mg/kg ili 1,6 mg/kg telesne mase, glavni metabolit je bio konjugovani HMMA-sulfat, prisutan u analiziranom urinu kod 98% ispitanika (53).

#### 1.5.4.4. Način unošenja u organizam

MDMA se najčešće konzumira oralnim putem u obliku tablete „ekstazi“. Zloupotreba MDMA retko uključuje i druge načine konzumiranja, kao što je nazalno, rektalno ili intravenski (68). Tablete „ekstazi“ su najčešće brendirane u mnogo boja, različitih oblika i dimenzija i sa različitim utisnutim logotipovima (Slika 4).



Slika 4. Primeri različitih tableta „ekstazi“ (Preuzeto iz: Thimm B. Arbeitsgedächtnis und Merkfähigkeit bei Ecstasy-Konsumenten [dissertation]. Aachen: Medizinischen Fakultät der Rheinisch-Westfälischen Technischen Hochschule;2006.)

Ove tablete sadrže dozu MDMA od 30 do 150 mg. Tablete „ekstazi“ pored MDMA uglavnom sadrže i druge supstance, kao što su kofein, analgetici (acetilsalicilna kiselina, paracetamol), lidokain, skrob i glukozu (69). Toksikološko - hemijskom analizom 101 zaplenjene tablete ekstazija u noćnim klubovima u Londonu i Svansiju 2006. godine ustanovljena je doza MDMA u rasponu 20 - 131 mg ( $58,7 \pm 22,9$  mg) (70). Korisnici ekstazija uzimaju najčešće 2 - 3 tablete, dok pojedini uzimaju i 10 - 25 tableta odjednom (71).

#### 1.5.4.5. Klinički simptomi i znaci trovanja

MDMA izaziva različite toksične efekte na organizam u zavisnosti od doze i učestalosti konzumiranja. Klinički simptomi i znaci trovanja nastali usled zloupotrebe MDMA zavise od toga da li se MDMA konzumira akutno (jednokratno) ili hronično (dugoročno) (65). Kod akutnog konzumiranja MDMA dolazi do povećanja budnosti, izdržljivosti i energije, seksualnog uzbuđenja i odlaganja umora i pospanosti. Prateći psihološki efekti su osećanje euforije, blagostanja, izoštrena senzorna percepcija, veća društvenost, ekstraverzija, pojačan osećaj bliskosti sa drugim ljudima (72). MDMA izaziva mnoge negativne efekte, kao što su mišićna napetost, stezanje vilica, bruksizam, nemirni pokreti nogu, čak i kada se konzumira u umerenim dozama u rekreativne svrhe. Ukočenost i bol u mišićima donjeg dela leđa i udova su veoma česti tokom prvih 2 - 3 dana nakon konzumiranja MDMA (73). Glavobolja, mučnina, gubitak apetita, zamagljen vid, suva usta i nesаница, tahikardija, arterijska hipertenzija su prisutni neposredno posle konzumiranja MDMA, ali mogu biti prisutni i kraće ili duže vreme po prestanku upotrebe MDMA (74).

Psihološki akutni simptomi i znaci, nastali kao posledica konzumiranja MDMA su povećana uzbuđenost, nemogućnost usmeravanja razmišljanja na održiv i koristan način, nesаница, blage halucinacije, depersonalizacija, anksioznost, uznemirenost i bizarno ili nesmotreno ponašanje. Povremeno ovi simptomi dovode do napada panike, delirijuma ili do kratkotrajnih psihotičnih epizoda, koje obično brzo nestanu kada prestane dejstvo ove supstance. Dan ili dva nakon konzumiranja MDMA nastaju poteškoće u koncentraciji, depresija, anksioznost i umor (75).

Studije koje opisuju toksičnost nastalu usled korišćenja MDMA, ukazuju da ona zavisi od unete doze MDMA u organizam, kao i od individualnih karakteristika organizma u odgovoru na MDMA. Toksični efekat MDMA se ispoljava nakon oralnog unosa 100 - 160 mg. Postoje razlike u dejstvu stereoizomera MDMA. Efikasna doza MDMA S(+) enantiomera je 80 - 120 mg, MDMA R(-) enantiomera je oko 300 mg (76). Doze MDMA ispod 1 mg/kg telesne mase ne ispoljavaju efekat na kardiovaskularni sistem, a doze iznad 1 mg/kg telesne mase ispoljavaju psihološki efekat (77). Većina rekreativnih korisnika MDMA najčešće konzumira 1 - 2 tablete (60 - 300 mg) MDMA na reju zabavama (78, 79). Tolerancija na neke efekte MDMA se razvija tokom hronične upotrebe. Stoga veće doze uzimaju korisnici koji su MDMA koristili u dužem vremenskom periodu, nego oni koji su tek počeli korišćenje MDMA (70). U studiji u kojoj je učestvovalo više od 1000

ispitanika, koji su bili na reju zabavama ustanovljeno je da 54% ispitanika je koristilo pet ili više tableta ekstazija, a 2% ispitanika je koristilo dvadeset ili više tableta odjednom. Efekat dejstva MDMA na ispitanike je zavisio od doze MDMA, čistoće supstance, individualnog metabolizma, ambijentalne temperature, unošenja tečnosti, iscrpljivanja organizma i hipertermije. Maksimalna tolerantna doza MDMA kod zdravih osoba nije determinisana (76). U studiji Regenthala i saradnika devetnaestogodišnji muškarac je posle konzumiranja 40 tableta ekstazija imao samo tahikardiju, midrijazu, konfuziju, blagu sedaciju i retrogradnu amneziju (80). Tridesetogodišnji muškarac je posle uzimanja 50 tableta ekstazija imao epileptične napade i upao u komu. Njegova maksimalna telesna temperatura je bila 38,7°C i preživeo je uz medicinsku pomoć (81). Jedna tableta ekstazija kod trinaestogodišnjeg deteta je dovela do arterijske hipertenzije, tahiaritmije, epileptičnih napada, ali nije dovela do značajnog porasta telesne temperature (82). U studiji Vollenweidera i saradnika, koja je sprovedena na 13 zdravih ispitanika, koji su rekreativno koristili MDMA u dozi od 1,7 mg/kg telesne mase, došlo je do poboljšanja raspoloženja i osećaja blagostanja uz povećanu emocionalnu osetljivost i arterijsku hipertenziju. U ovoj studiji je jedan ispitanik imao kratkotrajnu arterijsku hipertenziju 240/145 u trajanju od dvadeset minuta, koja je prošla bez komplikacija (83). U duplo slepoj studiji sprovedenoj na osam ispitanika aplikovan je placebo i MDMA u dozi od 0,5 mg/kg telesne mase. Kod ovih ispitanika nisu ustanovljeni subjektivni efekti u kontrolisanim laboratorijskim uslovima. Kada je ispitanicima aplikovan MDMA u dozi od 1,5 mg/kg telesne mase, kod njih su nastali značajni subjektivni efekti vezani za rad srca i bili su najizraženiji 1 - 2 časa od aplikacije ove doze (84). Doza MDMA od 1,5 mg/kg telesne mase izaziva efekat na kardiovaskularni sistem sličan dobutaminu u dozi 20 - 40 µg/kg/min, osim što MDMA ne izaziva inotropni efekat. Ova doza MDMA značajno povećava koncentraciju kortizola, prolaktina i dehidroepiandrosterona (DHEA) u plazmi (85). Doza MDMA od 1,9 mg/kg telesne mase ne dovodi značajno do porasta telesne temperature (60).

Minimalnu letalnu dozu MDMA kod ljudi je teško odrediti zbog široke varijabilnosti doze tableta, istovremenog uzimanja drugih lekova i idiopatskih individualnih reakcija na MDMA. Smrtni slučajevi se dešavaju kod mladih ljudi, koji rekreativno koriste MDMA, bez obzira na unetu dozu (86).

U studijama gde su korišćene manje doze 5 - 30 mg MDMA ustanovljeni su različiti klinički simptomi i znaci, kao što su smanjen umor, povećana energija, euforija, pozitivno raspoloženje, uznemirenost, ubrzano disanje, palpitacije, srčane aritmije, tahikardija, arterijska hipertenzija, akutna disekcija aorte, dilatacija zenica, povišena telesna temperatura, pojačano znojenje, stezanje vilice, sušenje usta, smanjen apetit, dezinhibicija ponašanja, kratkotrajno poboljšanje pažnje, mišićni tremor, hiperrefleksija (87).

MDMA je jedna od najviše ispitivanih psihostimulativnih supstanci, koja dovodi do povišene telesne temperature, koja može da dostigne vrednost od 43°C (88, 89). Konzumira se rekreativno na reju zabavama ili u noćnim klubovima, gde su najčešće visoke temperature u prostorijama, veliki broj ljudi, povećana fizička aktivnost i dehidracija, što sve zajedno može da dovede do povišene telesne temperature (90, 91). Korišćenje MDMA dovodi do povećane fizičke

aktivnosti, periferne vazokonstrukcije, poremećaja funkcije termoregulacionih mehanizama u centralnom nervnom sistemu, gubitka telesnog signala za žeđ i iscrpljenost, euforije, povećanog tonusa mišića, što uglavnom dovodi do povišene telesne temperature (92).

Freedman i saradnici u studiji koja je obuhvatala deset zdravih ispitanika, koji su rekreativno koristili MDMA i nalazili se u sredinama sa temperaturama 30°C i 18°C su ustanovili da je MDMA kod ispitanika doveo do porasta telesne temperature, arterijske hipertenzije i tahikardije. Posle korišćenja MDMA, telesna temperatura je bila povišena kod ispitanika u obe sredine, ali malo više kod ispitanika, koji su se nalazili u sredini sa temperaturom 30°C. Nije postojala statistički značajna razlika između vrednosti telesnih temperatura ispitanika u sredinama sa temperaturama 30°C i 18°C (93).

U studiji u kojoj su učestvovali ispitanici, koji su na reju zabavi koristili MDMA ustanovljeno je da su ispitanici, koji su imali veće koncentracije MDMA u plazmi imali izraženiju arterijsku hipertenziju i tahikardiju i višu telesnu temperaturu od ispitanika, koji su imali manje koncentracije MDMA u plazmi (90).

Usled zloupotrebe MDMA može nastati i tzv. „5-HT sindrom“. Ovaj sindrom ima brz početak i karakteriše se akutnom hipertermijom, konfuzijom, pojačanim znojenjem, dijarejom, kardiovaskularnim poremećajima, povećanim mišićnim tonusom i rigidnošću. Kao krajnji ishod može nastati multiorgansko oštećenje, koje može dovesti do smrti (73).

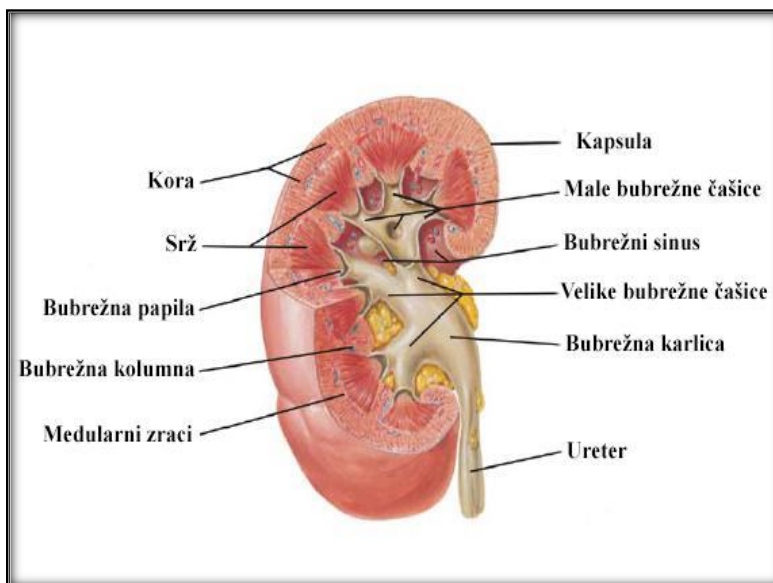
## 1.6. ANATOMSKE I HISTOLOŠKE KARAKTERISTIKE BUBREGA ČOVEKA

Urinarni sistem čine organi koji su uključeni u proces stvaranja, skladištenje i oslobađanja urina u spoljašnju sredinu. Urinarni organi su bubrezi i urinarni putevi, u koje spadaju bubrežne čašice (*calix*), bubrežna karlica (*pelvis renalis*), mokraćovodi (*ureter*), mokraćna bešika (*vesica urinaria*) i mokraćna cev (*uretra*) (94).

Bubrezi imaju višestruku ulogu u organizmu i utiču na rad svih ostalih organa i organizma u celini. Osnovna funkcija bubrega je formiranje konačne mokraće i održavanje homeostaze u organizmu, što podrazumeva regulaciju vode i elektrolita, regulaciju osmolarnosti telesnih tečnosti i koncentracije elektrolita, regulaciju acido - bazne ravnoteže, izlučivanje otpadnih materija i produkata metabolizma iz organizma, regulaciju arterijskog krvnog pritiska, sekreciju hormona (eritropoetin, renin), sinteza glukoze i dr. (95, 96, 97, 98).

## Anatomska građa bubrega

Bubrezi (*ren, nephros*) su parni parenhimatozni organi, crvenosmeđe boje, čvršće konzistencije, oblika zrna pasulja, dužine 10 - 12 cm, širine 5 - 6 cm i debljine 2 - 3 cm, prosečne mase kod odraslog čoveka oko 140 grama i predstavljaju centralni deo urinarnog sistema. Smešteni su u retroperitonealnom prostoru, na zadnjem zidu trbušne duplje i nalaze se sa obe strane kičmenog stuba u visini 12. grudnog pršljena i 1. i 2. slabinskog pršljena. Gornji polovi bubrega međusobno su udaljeni oko 8 cm, a donji polovi oko 12 cm. Gornje 2/3 prednje strane desnog bubrega prekriva jetra, a donju 1/3 desni ugao kolona. Levi bubreg je sa prednje strane prekriven: repom pankreasa, slezinom, želucem, levim uglom kolona i vijugama jejunuma, zaadnja strana naleže na mišiće zadnjeg trbušnog zida (m. psoas major i m. quadratus lumborum) i u odnosu je sa 12. grudnim rebrom i donjim pleuralnim sinusom. Bubreg ima dve strane - prednja (*facies anterior*) i zadnja (*facies posterior*), dva pola - gornji (*polus superior*) i donji (*polus inferior*) i dve ivice - spoljašnja (*margo lateralis*) i unutrašnja (*margo medialis*). Spoljašnja strana bubrega je konveksna, a unutrašnja strana je konkavna i u njenom središtu se nalazi unutrašnji otvor ili hilus bubrega (*hilus renalis*), gde ulaze nervi i grane bubrežne arterije, a izlaze grane bubrežne vene, limfni sudovi i ureter ka središnjem delu bubrega (*sinus renalis*). Na gornjem polu bubrega se nalazi nadbubrežna žlezda, dok je donji pol slobodan. Bubreg je sa spoljašnje strane obavijen fascijom (*fascia renalis*), ispod koje se nalaze masna kapsula (*capsula adiposa*) i fibrozna kapsula (*capsula fibrosa*). Mesto polazišta uretera je prošireno i zove se bubrežna karlica (*pelvis renalis*). Bubrežna karlica je podeljena na 3 - 4 velike bubrežne čašice (*calices renales majores*), pri čemu se u svaku veliku bubrežnu čašicu ulivaju 2 - 3 male bubrežne čašice (*calices renales minores*) (Slika 5) (99).



Slika 5. Anatomska građa bubrega čoveka (Preuzeto iz: Treuting PM, Dintzis S, Liggitt D, Frevert CW, Montine KS, editors. Comparative Anatomy and Histology: A Mouse and Human Atlas. San Diego: Academic Press; 2012. p. 233.)

## Vaskularizacija bubrega

Bubreg vaskularizuje bubrežna arterija (*arteria renalis*), po jedna arterija za svaki bubreg. Bubrežna arterija je viscelarna grana trbušne aorte i ulazi u bubreg kroz hilus bubrega i deli se na dve grane - ventralnu i dorzalnu. Jedna grana odlazi u prednji, a druga u zadnji deo bubrega. Pre ulaska u parenhim bubrega ove grane se dele i daju interlobarne arterije (*arteriae interlobares*), a one u predelu baza bubrežnih piramida savijaju se i nastavljaju dalje kao lučne arterije (*arteriae arcuatae*). One se dalje pružaju graničnom linijom između kore i srži bubrega i granaju se u jednakim razmacima na interlobularne arterije (*arteriae interlobulares*), koje se pružaju ka kapsuli bubrega. Od svake interlobularne arterije polazi aferentna arteriola (*arteriola afferens*), koja ulazi u glomerulski kapilarni splet, a iz njega izlaze eferentne arteriole (*arteriolae efferens*), koje se kod kortikalnih nefrona ponovo granaju dajući peritubularnu kapilarnu mrežu, koja ishranjuje tubulski sistem. Kod jukstamedularnih nefrona, eferentne arteriole daju duge tanke kapilare, koji prate Henleovu petlju i nazivaju se pravi sudovi. Oni prodiru do vrhova bubrežne piramide, prave petlju i vraćaju se nazad do kortikomedularne granice, gde formiraju venule koje se posle ulivaju u vene (100).

Vene bubrežnog parenhima prate istoimene arterije. Kapilari kapsule bubrega i spoljašnjeg dela kore se sakupljaju i formiraju zvezdaste vene (*venae stellatae*). One se ulivaju u interlobularne vene (*venae interlobulares*), a interlobularne vene u lučne vene (*venae arcuatae*). U lučne vene se drenira i vaskularna mreža iz srži i venska krv zatim ide kroz interlobarne vene (*venae interlobares*) i u bubrežnu venu (*vena renalis*), koja kroz hilus izlazi iz bubrega i uliva se u donju šuplju venu (*vena cava inferior*) (101).

Limfni sudovi bubrega odnose limfu u paraaortalnu grupu limfnih čvorova odgovarajuće strane. U bubregu postoje dve mreže limfnih sudova. Jedna se nalazi u spoljnjem delu kore bubrega i limfa iz nje odlazi u limfne sudove kapsule bubrega. Druga je smeštena dublje u parenhimu bubrega i izliva se preko limfnog suda, koji izlazi kroz hilus bubrega i dalje odlazi u parijetalne (slabinske) limfne žlezde i sabirno stablo. Između ove dve limfne mreže postoje anastomoze (94).

## Inervacija bubrega

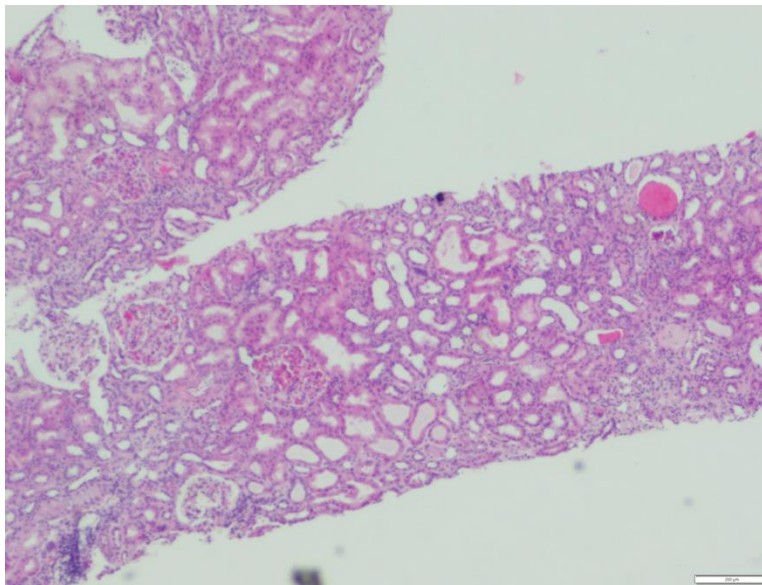
Bubreg inerviše bubrežni splet (*plexus renalis*), koga grade grane *plexus coeliacusa*, *plexus aorticus abdominalis* i *nervi splanchnici lumbales*. Bubrežni splet se nalazi iza početnog dela stabla bubrežne arterije. Njegove grane ulaze u bubreg, prateći završne grane bubrežne arterije i ispoljavaju uglavnom vazomotorno dejstvo. Bubrežni splet daje grane, koje inervišu ureter, kao i spermatične grane, odnosno ovarijalni nervni splet (102).

## Histološka građa bubrega

Bubreg je kod čoveka histološki podeljen na koru (*cortex renalis*) i srž (*medulla renalis*). Kora bubrega je sitnogradulisanog izgleda, najvećim delom izgrađena od nefrona, tj. od bubrežnih

telašaca, proksimalnih i distalnih vijugavih tubula, koji čine kortikalni lavirint i lučnih segmenata sabirnih kanalića. U kori se nalaze i medularni zraci, koji se pružaju od baza medularnih piramida ka kori. Srž bubrega se sastoji iz spoljašnje i unutrašnje zone. U srži bubrega se nalazi 8 - 20 Malpigijevih bubrežnih piramida (medularne piramide), raspoređenih u tri ravni. Baze piramida su okrenute ka kori, a vrhovi ka bubrežnoj karlici. U piramidama se nalaze Henleove petlje jukstamedularnih nefrona, završni delovi Henleovih petlji kortikalnih nefrona, medularni delovi pravih segmenata sabirnih kanalića i papilarni kanali. Sa baze piramide u srž se pružaju Ferajnove piramide ili medularni zraci. Oni sadrže kortikalne delove pravih segmenata sabirnih kanalića, Henleove petlje kortikalnih nefrona i prave delove proksimalnih i distalnih tubula. Između medularnih piramida se nalaze delovi kortikalnog tkiva, koji se zovu bubrežni stubovi (Bertinijevi stubovi) (103).

Bubreg je građen iz strome i parenhima. Stromu čine kapsula izgrađena od fibroznog vezivnog tkiva i intersticijalno rastresito vezivno tkivo, kroz koje prolaze nervi, krvni i limfni sudovi. Parenhim grade nefroni i sistem sabirnih tubula, koga čine sabirni kanalići i papilarni kanali (Slika 6) (104).



Slika 6. Histološka građa bubrega čoveka (H&E, 40X)

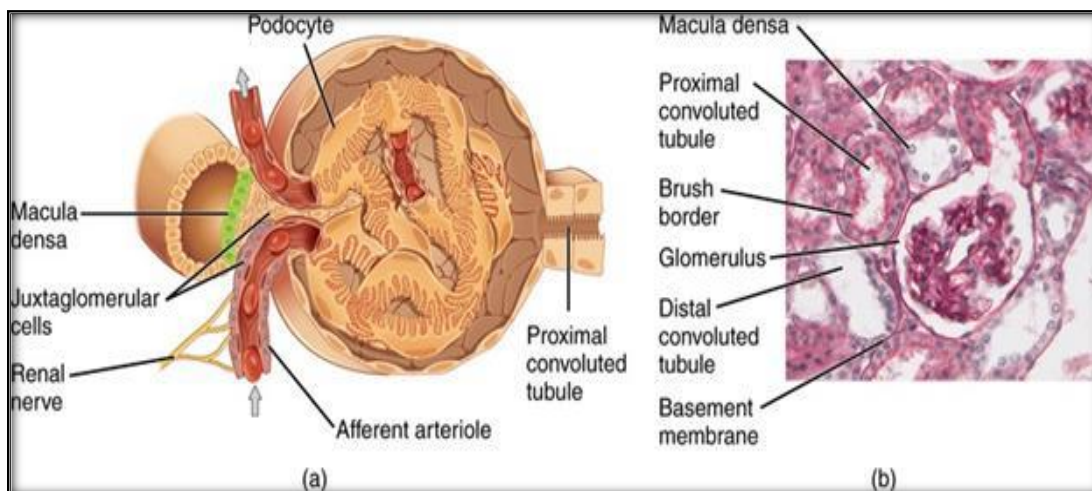
### **Nefron**

Nefron je osnovna morfološka i funkcionalna jedinica bubrega u kojoj se stvara urin. U svakom bubregu se nalazi oko milion nefrona. Nefroni se međusobno razlikuju u zavisnosti od lokacije bubrežnog telašca unutar kore bubrega. Postoje nefroni čija se bubrežna telašca nalaze u površnom delu kore, nefroni čija se bubrežna telašca nalaze u središnjem delu kore i nefroni čija se bubrežna telašca nazivaju jukstamedularna bubrežna telašca i nalaze se bliže srži.

Jukstamedularna bubrežna telašca su malo veća od onih površnih. Nefron se sastoji iz bubrežnog telašca, bubrežnog tubula i jukstaglomerularnog aparata (105).

### Bubrežno telašće

Bubrežno telašće je ovalnog oblika i ima dva pola - vaskularni i urinarni. Sastoji se iz dva dela: centralni - glomerul i periferni - Boumanova kapsula. Glomerul (Malpigijevo telašće) je klupčastog izgleda i sadrži splet fenestriranih kapilara, mezangijum i podocyte (Slika 7). Boumanova kapsula se sastoji od dva lista, spoljašnjeg (parijetalnog) i unutrašnjeg (visceralnog). Parijetalni list gradi jedan sloj pločastih ćelija, koji naleže na bazalnu laminu. Na vaskularnom polu ovaj list prelazi u viscelarni list, sačinjen od ćelija podocita, koji obavija glomerulske kapilare. Na urinarnom polu pločasti epitel parijetalnog lista se nastavlja na kockast epitel proksimalnog tubula nefrona. Između parijetalnog i viscelarnog lista Boumanove kapsule nalazi se urinarni prostor (Boumanov prostor). U njega se filtrira krvna plazma iz kapilara u vidu primarne mokraće, koja otiče u proksimalni tubul (106).



Slika 7. Građa glomerula bubrega. Preuzeto sa site Wikipedia slobodno.

[https://upload.wikimedia.org/wikipedia/commons/2/28/Juxtaglomerular\\_Apparatus\\_and\\_Glomerulus.jpg](https://upload.wikimedia.org/wikipedia/commons/2/28/Juxtaglomerular_Apparatus_and_Glomerulus.jpg)

### Bubrežni tubul

Bubrežni tubul (kanalić) se pruža od urinarnog pola bubrežnog telašca do sabirnog kanalića i sastoji se od tri dela: proksimalnog tubula, tankog segmenta Henleove petlje i distalnog tubula.

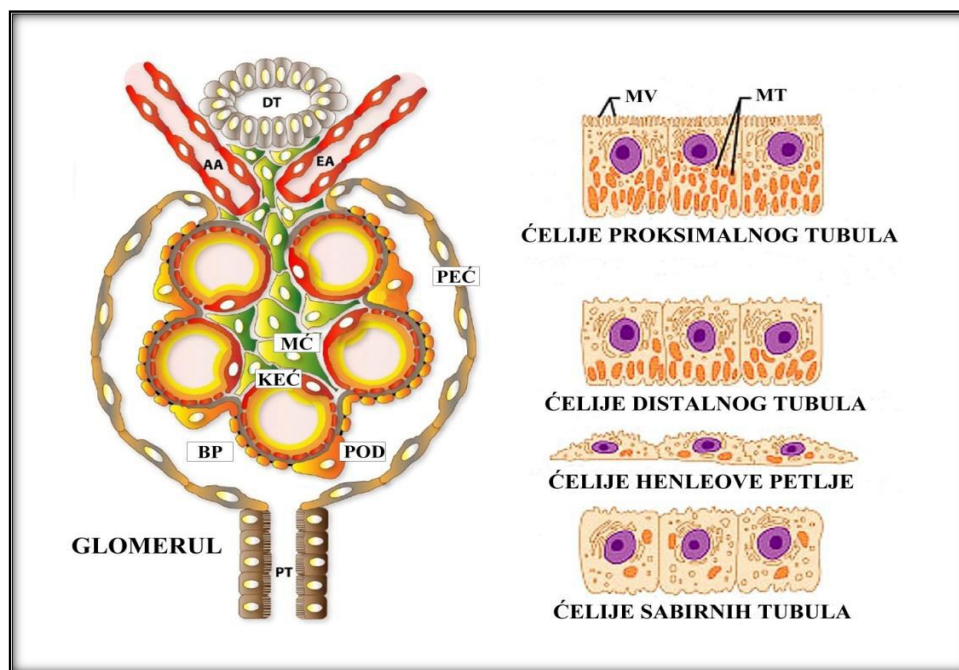
Proksimalni tubul se sastoji od dva dela - vijugavog i pravog dela, koji su funkcionalno podeljeni na S1, S2 i S3 segment. S1 i S2 segmenti pripadaju vijugavom delu proksimalnog tubula i njihove kockaste ćelije (nefrociti) imaju dobro razvijen četkast pokrov, centralno postavljeno jedro i acidofilnu citoplazmu, zbog velikog broja mitohondrija s obzirom da je razmena i transport



materija najveći u ovom delu tubula. S3 segment pripada pravom delu proksimalnog tubula i nastavlja se u Henleovu petlju.

Henleova petlja (tanki segment) ima nishodni i ushodni deo i prekrivena je jednoslojnim pločastim epitelom, koje su u bliskom kontaktu sa kapilarnim petljama koje se nazivaju pravi sudovi (*vasa recta*).

Distalni tubul se sastoji iz dva dela - pravog i vijugavog dela. Čelije distalnog tubula (distalni nefrociti) su kockastog oblika, niže od proksimalnih nefrocita i imaju svetliju citoplazmu bez mikrovila sa manje izraženim bazalnim labirintom. Distalni tubul se nastavlja na sabirne kanale, koji se spuštaju duboko u bubrežnu papilu. Sabirne kanale čine lučni sabirni tubuli, pravi sabirni tubuli i papilarni (Belinijevi) kanali. Lučni sabirni tubuli se pružaju iz distalnog tubula kortikalnog lavirinta do pravog sabirnog tubula lokalizovanog u medularnim zracima. Pravi sabirni tubuli iz medularnog zraka nastavljaju smer pružanja kroz medularnu piramidu, ka papili, u čijoj se blizini spajaju sa još 5 - 7 istih tubula u papilarni kanal. Lumen sabirnih kanala je obložen kockastim epitelom, koji se prema papilarnim kanalima transformiše u visok cilindrični epitel. Papilarni kanali predstavljaju završne delove bubrežne papile i na vrhu papile se ulivaju u odgovarajuću bubrežnu čašicu (Slika 8) (107).



Slika 8. Šematski prikaz glomerula bubrega i ćelija tubulskog sistema nefrona: PT - proksimalni tubul, DT - distalni tubul, BP - Bowmanov prostor, POD - podociti, KEĆ - kapilarna endotelna ćelija, MĆ - mezangijalna ćelija, PEĆ - parijetalna endotelna ćelija, AA - aferentna arteriola, EA - eferentana arteriola, MV - mikrovili, MT - mitohondrije (Preuzeto iz: Scott RP, Quaggin SE.

Review series: The cell biology of renal filtration. J Cell Biol 2015;209(2):201.)

### **Jukstaglomerularni aparat**

Jukstaglomerularni aparat je deo nefrona, koji predstavlja endokrini mikroorgan smešten iznad vaskularnog pola bubrežnog telašca. Sastoji se iz tri dela: 1) gusta ploča (*macula densa*) - cilindrične ćelije distalnog izvijuganog kanalića, koje kontaktiraju sa aferentnom arteriolom; 2) jukstaglomerulske ćelije - endokrino modifikovane glatke mišićne ćelije arteriole aferens, koje proizvode hormon renin i 3) ekstraglomerulski mezangijum (104).

### **Bubrežni intersticijum**

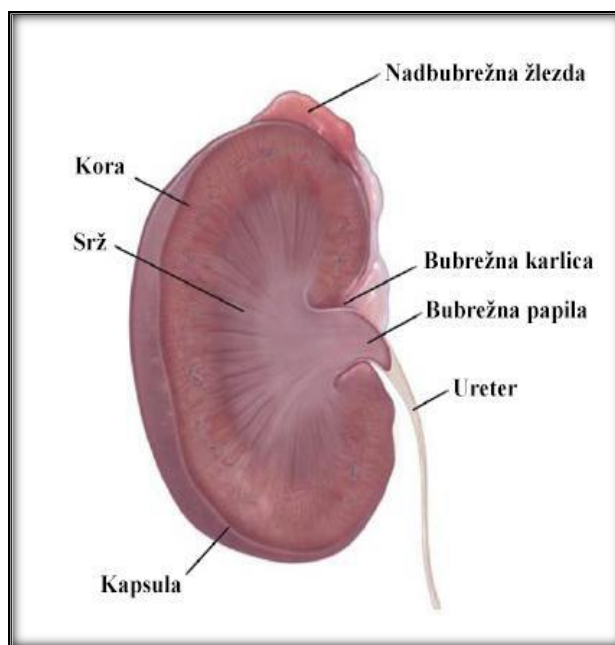
Bubrežni intersticijum predstavlja prostor ispunjen vezivnim tkivom između nefrona, sabirnih kanalića, krvnih i limfnih sudova. Kod čoveka zauzima oko 7% zapremine kore i oko 20% zapremine srži bubrega. Sagrađen je od ćelija (fibroblasti, makrofagi i intersticijalne ćelije) i ekstracelularnog matriksa (kolagena vlakna i proteoglikani). Fibroblasti učestvuju u sintezi ekstracelularnog matriksa (kolagen i ostala vezivna vlakna), dok makrofagi učestvuju u nespecifičnoj odbrani (108).

## **1.7. ANATOMSKE I HISTOLOŠKE KARAKTERISTIKE BUBREGA PACOVA**

Urinarni sistem pacova učestvuje u različitim fiziološkim procesima, kao što su održavanje homeostaze u organizmu, stvaranje urina, kojim se izbacuju štetne materije iz organizma nastale metaboličkim procesima zajedno sa vodom i elektrolitima, regulaciji osmolalnosti, zapremine tečnosti, arterijskog krvnog pritiska, apsorpcije kalcijuma, produkciji hormona (renin, eritropoetin, kalcitriol). Organi koji čine urinarni sistem su: bubrezi (*ren*), bubrežne karlice (*pelvis renalis*), mokraćovodi (*ureter*), mokraćna bešika (*vesica urinaria*) i mokraćna cev (*uretra*) (109, 110).

### **Anatomska građa bubrega**

Bubrezi (*ren, nephros*) su parni organi smešteni u retroperitonealnom prostoru, dorzalno u predelu vrha trbušnog zida sa obe strane kičmenog stuba. Desni bubreg se nalazi više kranijalno od levog i u odnosu je sa repatim režnjem jetre. Bubrezi su crvenkastobraonkaste boje i obavijeni su masnom kapsulom (*capsula adiposa*), koja je zaštitni omotač. Oni imaju dorzalnu stranu, koja je u odnosu sa vrhom trbuha i ventralnu stranu, koja je u odnosu sa trbušnim zidom. Spoljašnja strana bubrega je konveksna, a unutrašnja je konkavna. Na unutrašnjoj strani se nalazi hilus bubrega (*hilus renalis*), kroz koji prolaze mokraćovodi, krvni sudovi i nervi iz bubrega. Fibrozna kapsula (*capsula fibrosa*) obavija parenhim bubrega (Slika 9) (109).



Slika 9. Anatomska građa bubrega pacova (Preuzeto iz: Treuting PM, Dintzis S, Liggitt D, Frevert CW, Montine KS, editors. Comparative Anatomy and Histology: A Mouse and Human Atlas. San Diego: Academic Press; 2012. p. 233.)

### Vaskularizacija bubrega

Bubreg pacova vaskularizuje bubrežna arterija (*arteria renalis*), grana trbušne aorte, kao i kod svih sisara, po jedna arterija za svaki bubreg. Bubrežna arterija pre ulaska u hilus bubrega se grana na dve grane, kranijalnu i kaudalnu, koje prolaze kroz parenhim bubrega. U bubregu ove grane daju segmentne arterije (*arteriae segmentalis*), koje se dalje granaju na interlobarne arterije (*arteriae interlobares*), koj se pružaju do bubrežnih piramida. Interlobarne arterije se pridružuju lučnim arterijama (*arteriae arcuate*) na granici između kore i srži bubrega. Lučne arterije se granaju na interlobularne arterije (*arteriae interlobulares*), koje se pružaju u koru bubrega. Od interlobularnih arterija dalje nastaju aferentne glomerularne arteriole. Glomerul je formiran od sklopčanih kapilara aferentnih glomerularnih arteriola koje se spajaju sa eferentnim glomerularnim arteriolama. Eferentne glomerularne arteriole se završavaju u kapilarnom spletu, od kojih dalje polaze interlobularne vene (*venae interlobulares*), koje se dalje ulivaju u interlobarne vebne (*venae interlobares*), a one dalje u bubrežnu venu (*vena renalis*), koja izlazi iz hilusa bubrega i uliva se u donju šuplju venu (*vena cava inferior*) (109).

Intersticijalna tečnost iz bubrega izlazi preko dve različite mreže limfnih sudova - površinske, kapsularne i duboke hilarne mreže. Intrarenalni limfni sudovi se nalaze u kori bubrega u rastresitom vezivnom tkivu oko interlobarnih i lučnih arterija, koji se ulivaju u hilarnu mrežu limfnih sudova. U sistem limfnih sudova kapsularne mreže se drenira limfna tečnost iz

subkapsularnih krvnih sudova. Ovi limfni sudovi omogućavaju dreniranje limfne tečnosti od bubrežne kapsule preko kore u hilus bubrega (111).

### **Inervacija bubrega**

Bubreg inervišu eferentni nervi, koji su grane *plexusa coeliacusa*, *nervus splanchnicus*, *plexusa intermesentericus* i *plexusa hipogastricus superior*. Ovi nervi ulaze u bubreg, prateći završne grane bubrežne arterije i ispoljavaju uglavnom vazomotorno dejstvo (111).

### **Histološka građa bubrega**

Parenhim bubrega se sastoji iz kore (*cortex renalis*) i srži (*medulla renalis*). Bubreg sadrži samo jednu bubrežnu papilu (renalnu piramidu), koja se prostire duboku u bubrežnu karlicu. Bubreg pacova je histološki podeljen na pet topografskih regija: kora, spoljašnja traka spoljašnje srži, unutrašnja traka spoljašnje srži, unutrašnja srž i papila (110).

### **Nefron**

Nefron predstavlja osnovnu strukturnu i funkcionalnu jedinicu bubrega pacova. Pacovi imaju oko 15000 - 20000 nefrona u jednom bubregu i po tipu mogu biti nefroni sa bubrežnim telašcima smeštenim u površnom delu kore i nefroni sa bubrežnim telašcima smeštenim jukstamedularno. Nefroni se sastoje od bubrežnog telašca, bubrežnog tubula i jukstaklomerularnog aparata (110).

### **Bubrežno telašće**

Bubrežno telašće se sastoji od glomerularnog klupka okruženog Boumanovom kapsulom. Boumanova kapsula se sastoji iz parijetalnog i visceralnog lista. Parijetalni list Boumanove kapsule je sagrađen od parijetalnih ćelija, koje su zbog seksualnog dimorfizma različite kod mužjaka i ženki pacova. Kod mužjaka pacova su uglavnom kockaste epitelne ćelije, koje se nalaze na urinarnom polu bubrežnog telašca, a kod ženki pločaste epitelne ćelije. Visceralni list Boumanove kapsule predstavljaju specijalizovane ćelije glomerula - podociti. Podociti zajedno sa fuzionisanom bazalnom membranom i endotelnim ćelijama kapilara glomerula čine filtracionu barijeru, koja učestvuje u stvaranju primarnog urina. Pored ovih ćelija u glomerulu se mogu naći i specijalne mioepitelne ćelije - mezangijalne ćelije, koje su smeštene u centralnom delu glomerula (112).

### **Bubrežni tubul**

Bubrežni tubul (kanalić) se sastoji se iz tri dela: proksimalni tubul, Henleova petlja i distalni tubul.

Proksimalni tubul je histološki podeljen na vijugavi i pravi deo proksimalnog tubula, dok je funkcionalno podeljen na S1, S2 i S3 segment. Vijugavi deo proksimalnog tubula grade kockaste epitelne ćelije sa centralno postavljenim jedrom, većim brojem mitohondrija u citoplazmi i izrazito

razvijenim mikrovilima na apikalnom delu ćelije. U S2 segmentu proksimalnog tubula epitelne ćelije imaju veće mitohondrije sa više autofagnih vakuola. Pravi deo proksimalnog tubula takođe grade epitelne kockaste ćelije.

Henleovu petlju grade pločaste epitelne ćelije, koje naležu na endotelne ćelije pravih sudova.

Distalni tubul se sastoji iz pravog i vijugavog dela. Za razliku od proksimalnog tubula, ćelije distalnog tubula nemaju mikrovile na apikalnom polu, imaju manji broj mitohondrija, a jedra su smeštena bliže apikalnom polu. Distalni tubul se nastavlja na sabirne tubule i kanale koji se spuštaju duboko u bubrežnu papilu. Lumen sabirnih tubula je prekriven kockastim epitelnim ćelijama, dok su sabirni kanali prekriveni cilindričnim epitelnim ćelijama. Papilarni kanali se nalaze u okviru bubrežne papile i kroz njih se konačni urin izlučuje direktno u bubrežnu karlicu (112).

### **Jukstaglomerularni aparat**

Jukstaglomerularni aparat ima značajnu ulogu u autoregulaciji renalnog protoka krvi i kontroli nivoa glomerulske filtracije. Sastoji se od aferentne i eferentne arteriole bubrežnog telašca, macula densa i ekstraglomerularnih mezangijalnih ćelija. Macula densa predstavlja deo jukstaglomerularnog aparata koji čine ćelije distalnog tubula koje dodiruju aferentnu i eferentnu arteriolu. U glatkomišićnim zidovima arteriola se nalaze ćelije koje proizvode i luče renin, koji reguliše protok krvi kroz bubrege (109).

### **Bubrežni intersticijum**

Bubrežni intersticijum kod pacova zauzima vrlo mali procenat bubrežnog parenhima (oko 2 - 3% u kori bubrega i oko 10% u srži bubrega). Intersticijum se sastoji od celularnog dela, koga čine makrofagi i fibroblasti i ekstracelularnog dela, koga čine kolagen i ostala vezivna vlakna (110).

## 1.8. RAZLIKE U ANATOMSKIM I HISTOLOŠKIM KARAKTERISTIKAMA IZMEĐU BUBREGA ČOVEKA I PACOVA

Funkcije bubrega, kao i anatomske i histološke karakteristike, su slične kod čoveka i pacova. Postoje neke razlike na makroskopskom i mikroskopskom nivou (razlike u anatomske i histološke građi) (Tabela 1) (110).

Tabela 1. Razlike u anatomske i histološke karakteristika između bubrega čoveka i pacova

KARAKTERISTIKE BUBREGA	ČOVEK	PACOV
<b>ANATOMSKE KARAKTERISTIKE</b>		
<b>Izgled bubrega</b>	bilateralni, multilobarni, glatki, mogu biti neravni	bilateralni, unilobarni, glatki
<b>Lokacija</b>	retroperitonealno, desni više kaudalno	retroperitonealno, desni više kranijalno, neposredno uz jetru
<b>Polni dimorfizam</b>	iste veličine muški i ženski bubreg	muški bubreg veći od ženskog
<b>Bubrežna papila</b>	4 - 18 papila	1 papila
<b>HISTOLOŠKE KARAKTERISTIKE</b>		
<b>Bubrežne čašice</b>	velike i male bubrežne čašice	ne postoje, mokraća se direktno uliva u bubrežnu karlicu
<b>Bowmanova kapsula</b>	prost pločast epitel	polni dimorfizam: odrasli mušjaci - prost kockast epitel odrasle ženke - prost pločast epitel
<b>Henleova petlja</b>	jasna granica između vaskularnog snopa i Henleove petlje	veliki vaskularni snopovi u direktnom kontaktu sa Henleovom petljom

## 1.9. NEFROTOKSIČNOST MDMA I PATOHISTOLOŠKE PROMENE U BUBREZIMA

Oštećenje bubrega dejstvom MDMA se karakteriše akutnom bubrežnom insuficijencijom. Akutna bubrežna insuficijencija nastaje usled akutne tubularne nekroze, koja je posledica netraumatske rabdomiolize (73, 113). Netraumatska rabdomioliza nastaje kao posledica povišene telesne temperature, povećane fizičke aktivnosti i direktnog toksičnog dejstva MDMA na skeletne mišićne ćelije. Usled rabdomiolize dolazi do oslobađanja mioglobina, kalijuma i fosfora u krvnu plazmu, što dovodi do mnogih metaboličkih poremećaja i promene sastava telesnih tečnosti. Kao posledica oštećenja bubrega može nastati arterijski hipotenzija, bubrežna ishemija i opstrukcija bubrežnih tubula mioglobinom (114). Akutna bubrežna insuficijencija, kao posledica zloupotrebe MDMA može nastati i usled nekrotizujućeg vaskulitisa, opstruktivne uropatije usled krvarenja u vratu mokraćne bešike, maligne hipertenzije, disfunkcije proksimalnih tubula bubrega i hipovolemije (115, 116, 117).

Prvi prikaz slučaja u literaturi sa akutnom bubrežnom insuficijencijom usled zloupotrebe ekstazija je publikovan 1992. godine. Kod ove osobe je došlo do akutne bubrežne insuficijencije posle uzimanja tri tablete ekstazija na reju zabavi. Akutna bubrežna insuficijencija je nastala kao posledica netraumatske rabdomioliza usled povećane fizičke aktivnosti i direktnog toksičnog dejstva ekstazija na mišićne ćelije. Kod ovog slučaja je ustanovljena i diseminovana intravaskularna koagulacija, koja je doprinela akutnoj bubrežnoj insuficijenciji (115).

Najčešće patohistološke promene u bubrežima nastale usled zloupotrebe MDMA opisane u literaturi su vaskularna kongestija, intersticijalni edem (21), nekrotizujući vaskulitis, fibrinoidna nekroza (118), diseminovana intravaskularna koagulacija (115), venska tromboza (119). U studijama koje su rađene kod ljudi koji su koristili ekstazi, patohistološkom analizom tkiva bubrega ustanovljena je degeneracija i nekroza ćelija tubula i inflamatorni infiltrat (120, 121, 122).

U studiji u kojoj su kao eksperimentalni model korišćeni pacovi soja Wistar, gde su pacovima u eksperimentalnoj grupi intraperitonealno aplikovane tri doze MDMA od po 5 mg/kg telesne mase u vremenskom razmacima od po dva časa i žrtvovani nakon 24 časa od početka eksperimenta, patohistološkom analizom tkiva bubrega u eksperimentalnoj grupi ustanovljen je intersticijalni edem sa proširenim prostorima između tubula i vaskularna kongestija (21).

### **1.10. PROMENE VREDNOSTI BIOHEMIJSKIH PARAMETARA U KRVI UZROKOVANE DEJSTVOM MDMA**

MDMA pored toga što dovodi do oštećenja organa, dovodi i do promena vrednosti biohemijskih parametara u krvi. Najčešće promene nastaju u vrednostima glukoze, kreatinina, elektrolita (natrijum, kalijum) i serumskih enzima (aspartat aminotransferaza - AST, alanin aminotransferaza - ALT, laktat dehidrogenaza - LDH, gama glutamiltransferaza - GGT, kreatin kinaza - CK) (118, 123).

Analizom biohemijskih parametara u krvi pacova u istraživanju u kome su pacovima soja Wistar u eksperimentalnoj grupi intraperitonealno aplikovane tri doze MDMA od po 5 mg/kg telesne mase u vremenskim razmacima od po dva časa i žrtvovani nakon 24 časa od početka eksperimenta ustanovljene su povišene vrednosti serumskih enzima CK, AST i ALT (21). Intenzivne mišićne kontrakcije izazvane dejstvom MDMA dovode do oštećenja mišićnih ćelija i povećanja koncentracije CK u serumu (do 100000 IU/L) (124).

U studiji koja je rađena u Amsterdamu 2010. godine, u kojoj je bilo uključeno 63 ispitanika, učesnika reju zabave, koji su konzumirali MDMA (eksperimentalna grupa) i 44 ispitanika, koji nisu konzumirali MDMA (kontrolna grupa) ispitivana je koncentracija natrijuma, kalijuma, hemoglobina u plazmi i hematokrit. Ustanovljeno je da je koncentracija natrijuma u plazmi kod ispitanika koji su konzumirali MDMA bila statistički značajno niža (hiponatrijemija) u odnosu na ispitanike koji nisu konzumirali MDMA. Koncentracija kalijuma u plazmi kod obe grupe ispitanika je bila približno ista i nije pokazivala statističku značajnu razliku (125).



## 2. CILJEVI ISTRAŽIVANJA

Ciljevi istraživanja su:

1. Ustanoviti vrstu i ukupan broj patohistoloških promena u bubrezima pacova, koje su nastale dejstvom različitih aplikovanih doza 3,4-metilendioksimetamfetamina u sredinama sa različitim temperaturama, žrtvovanih posle 8 i 24 sata od početka eksperimenta.
2. Morfometrijskom analizom kvantifikovati patohistološke promene u bubrezima pacova (inersticijalni edem, epitelne ćelije u lumenu bubrežnih tubula i nekrozu bubrežnih tubula) koje su nastale dejstvom različitih aplikovanih doza 3,4-metilendioksimetamfetamina u sredinama sa različitim temperaturama, žrtvovanih posle 8 i 24 sata od početka eksperimenta.
3. Ustanoviti promene vrednosti analiziranih biohemijskih parametara u krvi pacova i da li postoji statistički značajna razlika između tih vrednosti kod pacova u kontrolnim i eksperimentalnim grupama i između različitih eksperimentalnih grupa.
4. Odrediti povezanost između patohistoloških promena u bubrezima i analiziranih biohemijskih parametara u krvi pacova.
5. Ustanoviti vrstu patohistoloških promena u bubrezima i promene vrednosti analiziranih biohemijskih parametara u krvi humanih kadavera, koji su umrli usled trovanja 3,4-metilendioksimetamfetaminom i kod kojih je toksikološko - hemijskom analizom u uzorcima biološkog materijala (krv, urin, želudačni sadržaj, mozak, bubreg, jetra sa žučnom kesom) ustanovljeno prisustvo 3,4-metilendioksimetamfetamina.
6. Morfometrijskom analizom kvantifikovati patohistološke promene (inersticijalni edem, epitelne ćelije u lumenu bubrežnih tubula i nekrozu bubrežnih tubula) u bubrezima humanih kadavera, koji su umrli usled trovanja 3,4-metilendioksimetamfetaminom i kod kojih je toksikološko - hemijskom analizom u uzorcima biološkog materijala (krv, urin, želudačni sadržaj, mozak, bubreg, jetra sa žučnom kesom) ustanovljeno prisustvo 3,4-metilendioksimetamfetamina i odrediti odnos između morfometrijski kvantifikovanih patohistoloških promena u bubrezima pacova i humanih kadavera.

### 3. RADNE HIPOTEZE

Na osnovu podataka iz literature postavljene su radne hipoteze:

1. Kao posledica delovanja 3,4-metilendioksimetamfetamina u bubrezima pacova nastaju patohistološke promene: venska kongestija, intersticijalni edem, reverzibilno oštećenje bubrežnih tubula, dilatacija bubrežnih tubula, epitelne ćelije u lumenu bubrežnih tubula, inflamatorni infiltrat, sadržaj u lumenu bubrežnih tubula, nekroza bubrežnih tubula i fibroblastna proliferacija.
2. Vrednosti površina intersticijalnog edema i nekroze bubrežnih tubula su statistički značajno veće kod pacova kojima je aplikovana veća doza 3,4-metilendioksimetamfetamina u sredinama sa višim temperaturama, žrtvovanih posle dužeg vremenskog perioda od početka eksperimenta.
3. Postoji statistički značajna razlika između vrednosti analiziranih biohemijskih parametara u krvi pacova u kontrolnim i eksperimentalnim grupama, kao i između eksperimentalnih grupa u odnosu na aplikovanu dozu rastvora 3,4-metilendioksimetamfetamina u sredini sa višom temperaturom, žrtvovanih posle dužeg vremenskog perioda i eksperimentalnih grupa, kojima je aplikovana manja doza rastvora 3,4-metilendioksimetamfetamina u sredini sa nižom temperaturom, žrtvovanih posle kraćeg vremenskog perioda od početka eksperimenta.
4. Više vrednosti biohemijskih parametara u krvi su kod pacova sa većim brojem i kvantitativno izraženijim patohistološkim promenama u bubrezima ustanovljenim morfometrijskom analizom.
5. Patohistološke promene u bubrezima humanih kadavera, koji su umrli usled trovanja 3,4-metilendioksimetamfetaminom i kod kojih je toksikološko - hemijskom analizom u uzorcima biološkog materijala (krv, urin, želudačni sadržaj, mozak, bubreg, jetra sa žučnom kesom) ustanovljeno prisustvo 3,4-metilendioksimetamfetamina su: venska kongestija, intersticijalni edem, reverzibilno oštećenje bubrežnih tubula, dilatacija bubrežnih tubula, epitelne ćelije u lumenu bubrežnih tubula, inflamatorni infiltrat, sadržaj u lumenu bubrežnih tubula, nekroza bubrežnih tubula i fibroblastna proliferacija.
6. Ne postoji statistički značajna razlika između morfometrijski kvantifikovanih patohistoloških promena u bubrezima pacova i humanih kadavera, koji su umrli usled trovanja 3,4-metilendioksimetamfetaminom i kod kojih je toksikološko - hemijskom analizom u uzorcima biološkog materijala (krv, urin, želudačni sadržaj, mozak, bubreg, jetra sa žučnom kesom) ustanovljeno prisustvo 3,4-metilendioksimetamfetamina.

## **4. MATERIJAL I METODE**

Istraživanje je prospektivno - retrospektivnog karaktera sprovedeno na animalnom i humanom materijalu u Institutu za patologiju i sudsku medicinu Vojnomedicinske akademije Beograd.

### **4.1. ANIMALNI MATERIJAL**

Istraživanje je deo eksperimentalnog istraživanja izvedenog na oglednim životinjama - pacovima u Institutu za medicinska istraživanja Vojnomedicinske akademije Beograd int. br. 27-1/01 od 28.02.2001. godine. U toku eksperimenta su uzeti uzorci tkiva organa jetre, srca i bubrega pacova i krv za analizu biohemijskih parametara (glukoza, kreatinin, kreatin kinaza - CK, laktat dehidrogenaza - LDH, natrijum, kalijum, kalcijum, hlor, osmolalitet, aspartat aminottransferaza - AST, urea nitrat - BUN). Uzorci tkiva bubrega pacova su ukalupljeni u parafinske patohistološke kalupe i arhivirani u Institutu za patologiju i sudsku medicinu Vojnomedicinske akademije Beograd i nisu korišćeni za dosadašnja istraživanja.

U ovom istraživanju su korišćeni parafinski patohistološki kalupi uzoraka tkiva bubrega pacova i vrednosti analiziranih biohemijskih parametara (glukoza, kreatinin, kreatin kinaza - CK, laktat dehidrogenaza - LDH, natrijum, kalijum, kalcijum, hlor, osmolalitet, aspartat aminottransferaza - AST, urea nitrat - BUN) u krvi pacova.

#### **4.1.1. Toksikološko - hemijska analiza tableta „ekstazi“**

Pre početka eksperimenta u toksikološkoj laboratoriji Kriminalističko - tehničkog centra, Ministarstva unutrašnjih poslova Republike Srpske u Banjaluci su toksikološko - hemijski analizirane dve tablete „ekstazi“, bele boje, mase po 0,2900 g, gde je jedna strana tablete bez oznaka, a na drugoj strani se nalazi oznaka „TT“ (Slika 10).



Slika 10. Fotografija tableta „ekstazi“

Kvalitativna analiza tableta „ekstazi“ je rađena tehnikama infracrvene spektrofotometrije, tankoslojne i gasne hromatografije aparatima *FTIR - 8300* i *GC - 17A* marke *Shimadzu* (Japan). Infracrveni spektri uzoraka su snimljeni u tehnici KBr pastile. Obradom infracrvenih spektara uzoraka i njihovom komparacijom sa standardima supstanci MDMA i MDA utvrđeno je da spektri uzoraka imaju veću sličnost sa supstancom MDMA. Analizom infracrvenih spektara uzoraka tableta utvrđeno je da sadrže laktozu, što je potvrđeno i Woehlk reakcijom. Tankoslojna hromatografija je rađena u sistemu razvijaača Metanol:Amonia 25% (100:1,5). Korišćene su TLC ploče sledećih karakteristika: Silicagel 60 F 254 (sa fluorescentnim indikatorom), dimnezija 10x20 cm, debljina tankog sloja 0,25 mm. Pored uzoraka na TLC ploču naneseni su standardi sledećih amfetaminskih i njima srodnih supstanci: amfetamin sulfat, metamfetamin, MDA, MDMA, MDEA, MBDB, difenilhidramin, efedrin i katin. Vizualizacija TLC ploča izvršena je pod UV lampom na 254 nm i prskanjem ploče sa otopinom soli Fast Black K Salt. Nakon vizuelizacije i merenja referentnih vrednosti utvrđeno je da uzorci tableta sadrže MDMA supstancu. Isti kvalitativni rezultat je potvrđen i primenom tehnike gasne hromatografije. Odgovarajućim probama i reakcijama je dokazano da se radi o formi soli.

Kvantitativna analiza tableta „ekstazi“ je rađena tehnikom gasne hromatografije sa FID detektorom primenom metode internog standarda. Kao interni standard je korišćen difenilamin rastvoren u metanolu koncentracije 1 mg/ml. Upotrebljena je kapilarna kolona SPB-5 (5% Ph Me Silicone) sledećih karakteristika: dužina 15 mm, interni dijametar 0,32 mm, debljina tankog filma 1  $\mu$ m. Gas nosač je bio azot. Izračunavanje procentualnog sadržaja MDMA u uzorcima tableta izvršeno je na osnovu međusobnih odnosa standarda MDMA i internog standarda u standardnim rastvorima i rastvorima uzoraka. Analizirane tablete „ekstazi“ su kao aktivnu komponentu sadržale 3,4-metilendioksimetamfetamin (MDMA). Jedna tableta je sadržala 15,68%, a druga 15,63% MDMA, ostatak je bila laktoza i manja količina nečistoća, čiji sastav nije identifikovan. Za eksperiment su tablete „ekstazi“ rastvorene u destilovanoj vodi.

#### 4.1.2. Eksperiment na oglednim životinjama

Eksperiment je izveden na oglednim životinjama - pacovima u Institutu za medicinska istraživanja Vojnomedicinske akademije Beograd. Eksperimentalne procedure sa oglednim životinjama su sprovedene u skladu sa etičkim principima rada sa oglednim životinjama prema *European Community Guidelines (EEC Directive)* iz 1986. godine. Za eksperiment su korišćeni pacovi soja Wistar (*Rattus norvegicus*), muškog pola, starosti šest nedelja, prosečne telesne mase 258 g, odabrani metodom slučajnog izbora iz okota u vivarijumu Instituta za medicinska istraživanja Vojnomedicinske akademije Beograd. U eksperimentu je bilo 144 pacova, koji su nasumično raspoređeni dva sata pre početka eksperimenta u tri komore sa temperaturama vazduha 12°C, 22°C i 32°C sa filterskim sistemom za protok vazduha uz održavanje cirkadijalnog ritma i slobodnim pristupom vodi i standardizovanoj hrani za sitne ogledne životinje.

U svakoj komori je bilo šest grupa sa po osam pacova:

1. kontrolna grupa - 8 pacova, kojima je peroralno aplikovan po 1 ml destilovane vode i žrtvovani posle 8 sati
2. eksperimentalna grupa - 8 pacova, kojima je peroralno aplikovan po 1 ml rastvora 3,4-metilendioksimetamfetamina u destilovanoj vodi u dozi od 20 mg/kg telesne mase i žrtvovani posle 8 sati
3. eksperimentalna grupa - 8 pacova, kojima je peroralno aplikovan po 1 ml rastvora 3,4-metilendioksimetamfetamina u destilovanoj vodi u dozi od 40 mg/kg telesne mase i žrtvovani posle 8 sati
4. kontrolna grupa - 8 pacova, kojima je peroralno aplikovan po 1 ml destilovane vode i žrtvovani posle 24 sata
5. eksperimentalna grupa - 8 pacova, kojima je peroralno aplikovan po 1 ml rastvora 3,4-metilendioksimetamfetamina u destilovanoj vodi u dozi od 20 mg/kg telesne mase i žrtvovani posle 24 sata
6. eksperimentalna grupa - 8 pacova, kojima je peroralno aplikovan po 1 ml rastvora 3,4-metilendioksimetamfetamina u destilovanoj vodi u dozi od 40 mg/kg telesne mase i žrtvovani posle 24 sata

Rastvor 3,4-metilendioksimetamfetamina je pacovima aplikovan peroralno gastričnom sondom od nerđajućeg čelika, veličine otvora 18 G za peroralni tretman oglednih životinja. Svakom pacovu pre žrtvovanja je rektalno, sondom dužine 5 cm merena telesna temperatura. Pacovima koji su žrtvovani 8 sati posle aplikovanja rastvora 3,4-metilendioksimetamfetamina

telesna temperatura je merena na početku eksperimenta i na kraju svakog sata, a pacovima koji su žrtvovani 24 sata posle aplikovanja rastvora 3,4-metilendioksimetamfetamina telesna temperatura je merena na početku eksperimenta i na kraju svakog sata u prvih 8 sati, zatim na kraju 12., 18. i 24. sata.

Polovina od ukupnog broja pacova je posle 8 sati, a druga polovina posle 24 sata od aplikovanja rastvora 3,4-metilendioksimetamfetamina anestetizirana 25% rastvorom uretana (*Sigma - Aldrich*, Nemačka), zatim im je kardiopunkcijom uzeta krv iz srca za analizu biohemijskih parametara.

Nakon žrtvovanja svi pacovi su obdukovani i uzeti su uzorci tkiva bubrega za patohistološku analizu.

#### 4.1.3. Analiza biohemijskih parametara u krvi

Biohemijski parametri (glukoza, kreatinin, kreatin kinaza - CK, laktat dehidrogenaza - LDH, natrijum, kalijum, kalcijum, hlor, osmolalitet, aspartat aminotransferaza - AST, urea nitrat - BUN) u krvi pacova su analizirani u Institutu za medicinsku biohemiju Vojnomedicinske akademije Beograd. Uzorci krvi su uzeti od svih pacova u epruvetama sa aktivatorom koagulacije i ostavljeni da koagulišu 30 minuta, zatim centrifugirani 10 minuta na 3.000 obrtaja/min da bi se izdvojio supernatant (serum), koji je potom odličen u manje epruvete za biohemijske analize. Biohemijski parametri (glukoza, kreatinin, AST, LDH, kreatin kinaza i BUN) iz seruma su analizirani aparatom *Dimension*, *Siemens* (Nemačka), a elektroliti (natrijum, kalijum, hlor i kalcijum) su analizirani aparatom *Quiklyte*, *Siemens* (Nemačka).

## 4.2. HUMANI MATERIJAL

Istraživanje je sprovedeno na uzorcima tkiva bubrega osam humanih kadavera (7 muškog i 1 ženskog pola), životnog doba od 15 do 27 godina, koji su umrli usled trovanja 3,4-metilendioksimetamfetaminom i obdukovani u Institutu za patologiju i sudsku medicinu Vojnomedicinske akademije Beograd u vremenskom periodu od januara 1998. do decembra 2019. godine. U toku sudskomedicinskih obdukcija su uzeti uzorci tkiva bubrega za patohistološku analizu i uzorci biološkog materijala (krv, urin, želudačni sadržaj, mozak, bubreg, jetra sa žučnom kesom) za toksikološko - hemijsku analizu. Toksikološko - hemijskom analizom kod svih humanih kadavera je ustanovljeno prisustvo 3,4-metilendioksimetamfetamina u nekom od uzoraka biološkog materijala (krv, urin, želudačni sadržaj, mozak, bubreg, jetra sa žučnom kesom).

Za istraživanje su korišćene i vrednosti analiziranih biohemijskih parametara (glukoza, kreatinin, kreatin kinaza - CK, laktat dehidrogenaza - LDH, natrijum, kalijum, kalcijum, hlor, osmolalitet, aspartat aminotransferaza - AST, urea nitrat - BUN) u krvi iz medicinske dokumentacije (istorije bolesti pacijenta) Centra za kontrolu trovanja, Klinike za urgentnu i kliničku toksikologiju, Vojnomedicinske akademije Beograd, gde su bili hospitalizovani pre nastupanja smrti.

#### **4.2.1. Kriterijumi za uključivanje humanih kadavera u istraživanje**

1. toksikološko - hemijskom analizom ustanovljeno prisustvo 3,4-metilendioksimetamfetamina u uzorcima biološkog materijala (krv, urin, želudačni sadržaj, mozak, bubreg, jetra sa žučnom kesom)
2. toksikološko - hemijskom analizom nije utvrđeno prisustvo drugih psihoaktivnih supstanci, lekova ili farmaceutskih proizvoda, koji mogu da utiču na dobijene rezultate
3. na osnovu dostupne medicinske dokumentacije (istorija bolesti pacijenta) isključeno prisustvo oboljenja i stanja, koja bi mogla da dovedu do oštećenja bubrežne funkcije
4. sudskomedicinska obdukcija urađena u roku od 24 sata od nastupanja smrti
5. u toku obdukcije makroskopskim pregledom bubrega nisu ustanovljene autolitičke i putrefakcione promene u tkivu bubregu
6. patohistološkom analizom uzoraka tkiva bubrega nisu ustanovljene autolitičke promene u tkivu bubrega

#### **4.2.2. Kriterijumi za isključivanje humanih kadavera iz istraživanja**

1. toksikološko - hemijskom analizom nije ustanovljeno prisustvo 3,4-metilendioksimetamfetamina u uzorcima biološkog materijala (krv, urin, želudačni sadržaj, mozak, bubreg, jetra sa žučnom kesom)
2. toksikološko - hemijskom analizom utvrđeno prisustvo drugih psihoaktivnih supstanci, lekova ili farmaceutskih proizvoda, koji mogu da utiču na dobijene rezultate
3. na osnovu dostupne medicinske dokumentacije (istorija bolesti pacijenta) nije isključeno prisustvo oboljenja i stanja, koja bi mogla da dovedu do oštećenja bubrežne funkcije
4. sudskomedicinska obdukcija urađena posle 24 sata od nastupanja smrti

5. u toku obdukcije makroskopskim pregledom bubrega ustanovljene autolitičke i putrefakcione promene u tkivu bubrega
6. patohistološkom analizom uzoraka tkiva bubrega ustanovljene autolitičke promene u tkivu bubrega

#### **4.2.3. Toksikološko - hemijska analiza uzoraka biološkog materijala humanih kadavera**

Toksikološko - hemijska analiza uzoraka biološkog materijala (krv, urin, želudačni sadržaj, mozak, bubreg, jetra sa žučnom kesom) je rađena u Centru za kontrolu trovanja, Instituta za toksikologiju i farmakologiju, Odeljenja za toksikološku hemiju, Vojnomedicinske akademije Beograd.

Uzorci tkiva organa (mozak, bubreg, jetra sa žučnom kesom) su pripremljeni za toksikološko - hemijsku analizu po metodi Stass - Otto - Ogier - Kohn - Abrest na sledeći način:

Tkivo organa je isitnjeno, dobro izmešano i stavljeno u staklenu bocu, gde je dodata vinska kiselina. Zatim je u iseckanu i izmešanu masu tkiva organa dodata dva puta veća zapremina 90% etanola od zapremine uzetih organa. Ova smeša je potom stavljena da stoji 12 sati u vodenom kupatilu na temperaturi 60°C. Pošto se smeša ohladila tečnost se odvojila filtriranjem. Ovako dobijena tečnost je destilisana u vakumu na temperaturi 40°C. Posle filtracije dobijena je gusta sirupasta masa, u koju je dodat 95% etanol, pa je ponovo vršena filtracija. U bistar filtrat je dodato još malo 95% etanola, pa je ponovo filtriran. Dobijeni alkoholni rastvor je ponovo destilisan u vakumu do gustine sirupa. Dobijena sirupasta masa je rastvorena u 100% etanolu, pa je tečnost ponovo izdvojena filtriranjem. Rađena su tri prečišćavanja etanolom. U poslednji alkoholni rastvor je dodato 100 ml vode i opet je tečnost destilisana u vakumu, da se potisne iz nje sav alkohol. Destilacija je prekinuta kada je iz aparata počela da izlazi čista voda. Dobijeni vodeni kiseli rastvor je preručen u levak za izdvajanje. Ovom vodenom rastvoru je u levak dodat petroletar u istoj zapremini kolika je i zapremina rastvora. Zatim je posle nekog vremena odvojen vodeni rastvor od sloja petroletra, pa je ispušten vodeni rastvor. Prečišćavanje vodenog rastvora petroletrom je ponavljano tri puta. U ovako prečišćen kiseli rastvor je dodat 70% etar iste zapremine kao i zapremina vodenog rastvora. Ekstrahovanje sa etrom je ponavljano tri puta. Sav etar je sakupljen u jednu posudu i propušten kroz suvi filter papir. Dobijenom vodenom, kiselom rastvoru iz kog je izdvojen kiselo - etarni ekstrat je dodat natrijumbikarbonat, pa se onda vršilo ekstrahovanje etrom. Suvi ekstrakt rekonstituisan je u 5% metanolu uz dodatak smeše internih standarda i analiziran višekolonskom tečnom hromatografijom aparatom *High Performance Liquid Chromatography (HPLC) sa UV detekcijom, Bio Rad Diagnostics Group Hercules (SAD)* i poređen sa UV toksikološkom bibliotekom spektara.



Uzorci krvi, urina i želudačnog sadržaja su pripremljeni za toksikološko - hemijsku analizu na sledeći način:

U 1 ml uzorka (krv, urin, želudačni sadržaj) dodato je 100 ml amonijaka (*Merck*, Nemačka) i 5 ml hloroforma (*Merck*, Nemačka), zatim je mešano 20 minuta, potom centrifugirano u centrifugi 10 minuta na 3000 obrtaja/min da se izdvoji hloroform, zatim je vršeno uparavanje na struji vazduha do suvog ostatka. Suvi ostatak je rekonstituisan u mobilnoj fazi i analiziran višekolonskom tečnom hromatografijom aparatom *High Performance Liquid Chromatography (HPLC) sa UV detekcijom, Bio Rad Diagnostics Group Hercules (SAD)* i poređen sa UV toksikološkom bibliotekom spektara.

### 4.3. PATOHISTOLOŠKA OBRADA UZORAKA TKIVA BUBREGA

Uzorci tkiva bubrega pacova i humanih kadavera su u Institutu za patologiju i sudsku medicinu Vojnomedicinske akademije Beograd standardnom procedurom fiksirani u 4% pufersanom neutralnom formalinu, dehidrirani u rastućim koncentracijama etanola prema sledećem protokolu: dva sata u 70% etanolu, dva sata u 80% etanolu, dva sata u 96% etanolu, 45 minuta u 100% etanolu i prosvetljeni jedan sat u hloroformu. Posle dehidratacije uzorci tkiva bubrega su prožeti zagrejanim čvrstim parafinom na 60°C u aparatu za automatsku fiksaciju tkivnih uzoraka *ASP 300 S, Leica* (Nemačka) i ukalupljeni u parafinske patohistološke kalupe aparatom *Histostar, Thermo Scientific (SAD)*.

Parafinski patohistološki kalupi uzoraka tkiva bubrega su sečeni automatskim rotacionim mikrotomom *Leica RM 2135* (Nemačka) na rezove debljine 4 µm i stavljani na površinu zagrejane vode u vodenom kupatilu *Leica HI 1210* (Nemačka), a zatim na mikroskopska predmetna stakla. Isečki tkiva su sušeni na toploj ploči *Leica HI 1220* (Nemačka) jedan sat, a nakon toga su deparafinisani, hidratizani i bojeni standardnom metodom hematoksilin - eozin (H&E) aparatom *Leica ST 5020* (Nemačka) i histohehmijskom metodom Periodic Acid Schiff (PAS) - McManus.

#### 4.3.1. Hematoksilin - eozin (H&E) bojenje

Rastvori:

- **Hematoksilin (Mayer):** 1 g hematoksilina je rastvoren u 1000 ml destilovane vode, dobro promešan pa dodato 0,2 g natrijum jodata i 50 g kalijum aluminijum sulfata. Kada su navedene supstance rastvorene dodato je 50 g hloral hidrata i 1 g limunske kiseline. Rastvor je prokuvan i posle hlađenja profiltriran.
- **2‰ eozin Y:** 2 g eozina Y je rastvoren u 1000 ml destilovane vode.

Isečki tkiva su deparafinisani u ksilolu dva puta po pet minuta, potom hidratizirani u apsolutnom 95% etanolu, pa pet minuta u 75% etanolu i potom isprani destilovanom vodom. Zatim su preparati bojani pet minuta u rastvoru hematoksilina (Mayer), pa onda ispirani 10 minuta u tekućoj vodi, pa bojani četiri minuta u rastvoru 2‰ eozina Y, zatim isprani kratko u vodi, 75% etanolu i 96% etanolu. Zatim su preparati dehidratizirani 10 minuta u apsolutnom 95% etanolu i prosvetljeni 10 minuta u ksilolu pa montirani DPX-om na aparat za automatsko poklapanje preparata *Leica CV 5030* (Nemačka).

#### 4.3.2. Periodic Acid Schiff (PAS) - Mc Manus bojenje

Rastvori:

- **1% perjodna kiselina**
- **Schiff reagens:** 200 ml destilovane vode u erlenmajeru je prokuvano i u ključaloj vodi rastvoren 1 g baznog fuksina. Kada se temperatura rastvora spustila na 50°C u rastvor je dodato 2 ml koncentrovane HCl i izmešan. Rastvor je ostavljen da se ohladi do 25°C, pa zatim dodato 2 g kalijum - metabisulfita i izmešano. Erlenmajer je zatvoren parafilmom i ostavljen preko noći na tamnom mestu na sobnoj temperaturi. Sutradan u rastvor je dodato 2 g aktivnog uglja, rastvor dobro izmešan i ostavljen malo da odstoji. Rastvor je filtriran kroz Whatman N<sup>o</sup>.1 do obezbojavanja.
- **Sulfatni ispirać:** izmešano je 7,5 ml 1M HCl, 7,5 ml 10% kalijum - metabisulfita i 135 ml destilovane vode.

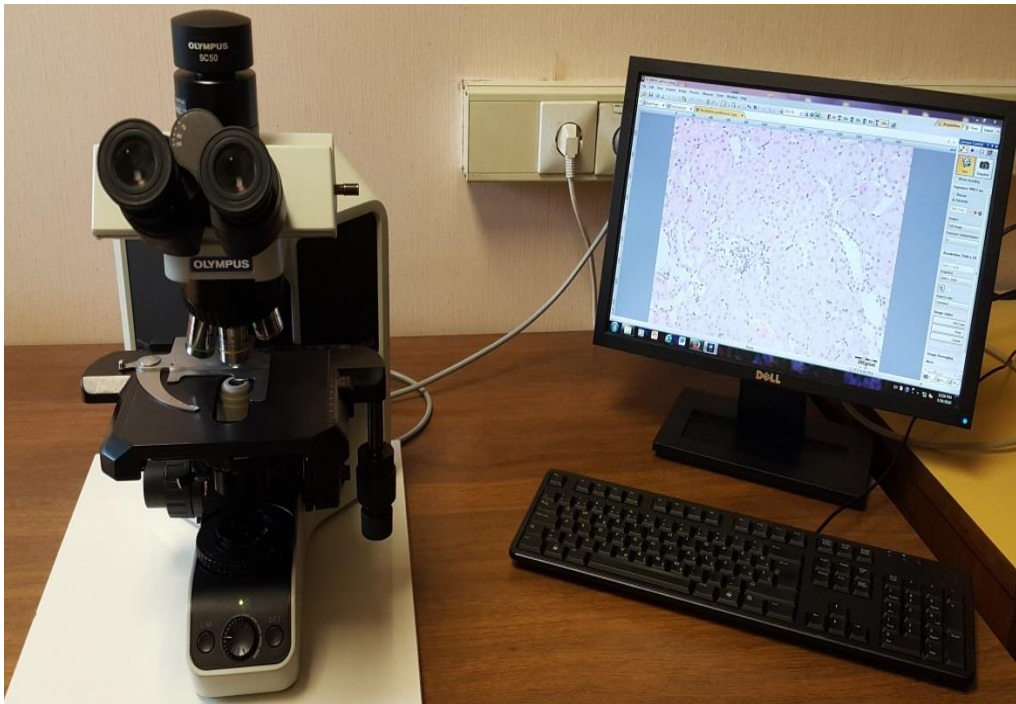
Uzorci tkiva bubrega su deparafinisani, potom prelivevi rastvorom perjodne kiseline u kome stoje 10 minuta, pa isprani nekoliko puta destilovanom vodom. Preparati su potom prelivevi Schiff reagensom u kome stoje 20 minuta, pa su onda isprani tri puta po 1,5 minuta sulfatnim ispiraćem

i posle toga 10 minuta tekućom vodom. Preparati su kontrastirani pet minuta hematoksilinom (Mayer), pa ispirani 10 minuta tekućom vodom. Zatim su preparati dehidratirani serijom etanola rastuće koncentracije, prosvetljeni i montirani DPX-om na aparat za automatsko poklapanje preparata *Leica CV 5030* (Nemačka).

Patohistološki mikroskopski preparati uzoraka tkiva bubrega su analizirani na uvećanju objektivna 10X, 20X i 40X svetlosnim mikroskopom *Olympus BX 43* (Nemačka) sa digitalnom kamerom *Olympus SC 50* (Nemačka) sa softverskim programom za digitalnu analizu slika *CellSense entry*.

#### 4.4. MORFOMETRIJSKA ANALIZA PATOHISTOLOŠKIH PROMENA U BUBREZIMA PACOVA I HUMANIH KADAVERA

Patohistološki mikroskopski preparati uzoraka tkiva bubrega pacova i humanih kadavera, kod kojih su ustanovljene patohistološke promene (intersticijalni edem, epitelnih ćelija u lumenu bubrežnih tubula i nekroza bubrežnih tubula) su slikani digitalnom kamerom *Olympus SC 50* povezanom sa mikroskopom *Olympus BX 43* (Nemačka) (Slika 11).



Slika 11. Mikroskop *Olympus BX 43* sa digitalnom kamerom *Olympus SC 50* (Nemačka)

Mikroskopski je analizirano i fotografisano do deset vidnih polja sa uvećanjem objektivna 10X, 20X i 40X. Dobijene digitalne slike su korišćene za kvantifikovanje promena u tkivu bubrega

morfometrijskom analizom. Kvantitativno su morfometrijski analizirane: površina intersticijalnog edema, površina nekroze bubrežnih tubula i površina koju zahvataju oštećene epitelne ćelije u lumenu bubrežnih tubula. Morfometrijski analizirane površine intersticijalnog edema i nekroze bubrežnih tubula su predstavljene kao procenat (%) koji zahvataju u odnosu na ukupnu površinu fotografisane slike (vidnog polja), a površine koje zahvataju oštećene epitelne ćelije u lumenu bubrežnih tubula su predstavljene u  $\text{pix}^2$ . Morfometrijska analiza je rađena primenom kompjuterskog programa *Image J* (<http://rsbweb.nih.gov/ij/>). Pre svake analize izvršena je kalibracija korišćenjem objektnog mikrometra.

#### 4.5. STATISTIČKA ANALIZA PODATAKA

Statistička analiza podataka je rađena u statističkom softverskom paketu *IBM SPSS Statistics Version 24*. Od dobijenih podataka su formirane baze podataka. Podaci su obrađeni i prikazani metodama deskriptivne statistike: minimalne i maksimalne vrednosti, mere centralne tendencije (aritmetička sredina -  $\bar{X}$ ), mere varijabilnosti (standardna devijacija - SD) i pokazatelji strukture (relativni brojevi). Za testiranje hipoteza su korišćeni parametrijski statistički testovi za numeričke varijable (Studentov t-test nezavisnih uzoraka za dve varijable, jednosmerna analiza varijanse - ANOVA za više varijabli) i neparametrijski statistički testovi za atributivne varijable (Mann - Whitney test za dve varijable i Kruskal - Wallis test za više varijabli). Za ispitivanje zavisnosti je korišćen neparametrijski koeficijent linearne korelacije. Hipoteze su testirane na nivou statističke značajnosti (alfa nivo) od 0,05. Rezultati su prikazani u tabelarno i grafikonima.

## **5. REZULTATI**

### **5.1. TELESNA TEMPERATURA PACOVA**

U toku eksperimenta merena je telesna temperatura svim pacovima. Pacovima koji su žrtvovani 8 sati posle aplikovanja rastvora 3,4-metilendioksimetamfetamina telesna temperatura je merena na početku eksperimenta i na kraju svakog sata, a pacovima koji su žrtvovani 24 sata posle aplikovanja rastvora 3,4-metilendioksimetamfetamina telesna temperatura je merena na početku eksperimenta i na kraju svakog sata u prvih 8 sati, zatim na kraju 12., 18. i 24. sata. Za svaku grupu pacova su statistički analizirani deskriptivni podaci (minimalna i maksimalna vrednost, aritmetička sredina -  $\bar{X}$  i standardna devijacija - SD) i predstavljeni tabelarno.

Tabela 2. Telesna temperatura pacova u sredini sa temperaturom 12°C žrtvovanih posle 8 sati

Vreme trajanja eksperimenta	Telesna temperatura	Kontrolna grupa	Eksperimentalne grupe	
			20 mg/kg MDMA	40 mg/kg MDMA
Početak eksperimenta	Min	36,1°C	36,6°C	36,1°C
	Max	37,5°C	37,8°C	37,5°C
	$\bar{X} \pm SD$	37,08±0,47°C	37,26±0,42°C	36,94±0,53°C
1. sat	Min	37,0°C	36,6°C	37,1°C
	Max	38,8°C	38,2°C	38,7°C
	$\bar{X} \pm SD$	37,51±0,43°C	37,42±0,71°C	37,90±0,69°C
2. sat	Min	38,1°C	37,4°C	36,8°C
	Max	38,7°C	39,5°C	40,6°C
	$\bar{X} \pm SD$	38,40±0,23°C	38,25±0,60°C	38,26±1,29
3. sat	Min	37,7°C	37,2°C	33,7°C
	Max	38,6°C	36,6°C	40,0°C
	$\bar{X} \pm SD$	38,17±0,35	38,22±0,77°C	36,95±1,89°C
4. sat	Min	37,5°C	35,2°C	32,5°C
	Max	38,9°C	38,9°C	39,2°C
	$\bar{X} \pm SD$	38,10±0,53°C	37,58±1,15°C	36,06±1,91°C
5. sat	Min	37,2°C	37,4°C	31,3°C
	Max	38,2°C	38,6°C	38,6°C
	$\bar{X} \pm SD$	37,69±0,39°C	38,01±0,44°C	35,90±2,11°C
6. sat	Min	37,3°C	37,6°C	31,4°C
	Max	38,1°C	38,3°C	37,8°C
	$\bar{X} \pm SD$	37,61±0,26°C	37,99±0,25°C	36,06±1,99°C
7. sat	Min	37,5°C	37,6°C	31,2°C
	Max	37,8°C	38,7°C	37,7°C
	$\bar{X} \pm SD$	37,70±0,13°C	38,22±0,37°C	36,47±2,17°C
8. sat	Min	37,3°C	37,8°C	30,5°C
	Max	38,6°C	38,9°C	38,1°C
	$\bar{X} \pm SD$	38,00±0,43°C	38,20±0,35°C	36,56±2,49°C
$\Sigma$	Min	37,1°C	37,3°C	35,9°C
	Max	38,4°C	38,3°C	38,3°C
	$\bar{X} \pm SD$	37,81±0,40°C	37,91±0,38°C	36,79±0,83°C

Tabela 3. Telesna temperatura pacova u sredini sa temperaturom 22°C žrtvovanih posle 8 sati

Vreme trajanja eksperimenta	Telesna temperatura	Kontrolna grupa	Eksperimentalne grupe	
			20 mg/kg MDMA	40 mg/kg MDMA
Početak eksperimenta	Min	36,4°C	36,4°C	36,2°C
	Max	37,3°C	37,4°C	36,7°C
	$\bar{X}\pm SD$	36,82±0,32°C	36,78±0,35°C	36,50±0,17°C
1. sat	Min	37,2°C	38,2°C	36,1°C
	Max	38,5°C	40,4°C	40,77°C
	$\bar{X}\pm SD$	37,92±0,41°C	39,43±0,68°C	39,60±0,79°C
2. sat	Min	37,2°C	39,2°C	37,8°C
	Max	38,5°C	40,5°C	41,3°C
	$\bar{X}\pm SD$	37,76±0,44°C	40,00±0,40°C	39,95±1,07°C
3. sat	Min	37,3°C	38,3°C	38,2°C
	Max	38,5°C	40,6°C	40,6°C
	$\bar{X}\pm SD$	37,86±0,43°C	39,80±0,71°C	39,37±0,89
4. sat	Min	37,3°C	38,2°C	38,3°C
	Max	38,5°C	41,4°C	40,6°C
	$\bar{X}\pm SD$	37,90±0,38	39,88±1,07°C	39,66±0,82°C
5. sat	Min	37,5°C	38,2°C	39,0°C
	Max	38,1°C	41,1°C	40,2°C
	$\bar{X}\pm SD$	36,67±0,23°C	39,62±1,13°C	39,60±0,40°C
6. sat	Min	37,2°C	38,4°C	38,1°C
	Max	38,4°C	41,8°C	40,3°C
	$\bar{X}\pm SD$	37,68±0,35°C	39,65±1,24°C	39,29±0,64°C
7. sat	Min	37,3°C	38,3°C	37,0°C
	Max	37,7°C	39,6°C	40,1°C
	$\bar{X}\pm SD$	37,45±0,16°C	38,96±0,44°C	38,62±0,95°C
8. sat	Min	37,1°C	37,7°C	36,9°C
	Max	38,2°C	39,1°C	39,2°C
	$\bar{X}\pm SD$	37,74±0,38°C	38,42±0,48°C	38,17±0,75°C
$\Sigma$	Min	36,7°C	36,8°C	36,5°C
	Max	37,9°C	40,0°C	39,9°C
	$\bar{X}\pm SD$	37,53±0,47°C	39,17±1,03°C	38,97±1,08°C

Tabela 4. Telesna temperatura pacova u sredini sa temperaturom 32°C žrtvovanih posle 8 sati

Vreme trajanja eksperimenta	Telesna temperatura	Kontrolna grupa	Eksperimentalne grupe	
			20 mg/kg MDMA	40 mg/kg MDMA
Početak eksperimenta	Min	38,7°C	39,3°C	38,1°C
	Max	39,3°C	40,2°C	39,3°C
	$\bar{X} \pm SD$	39,04±0,20°C	39,64±0,34°C	38,77±0,44°C
1. sat	Min	38,9°C	39,4°C	40,5°C
	Max	39,5°C	42,1°C	42,4°C
	$\bar{X} \pm SD$	39,21±0,20°C	41,05±1,02°C	41,65±0,71°C
2. sat	Min	38,8°C	37,6°C	36,1°C
	Max	39,3°C	41,6°C	40,0°C
	$\bar{X} \pm SD$	39,02±0,17°C	39,94±1,25°C	38,47±1,34°C
3. sat	Min	38,4°C	35,4°C	36,1°C
	Max	39,2°C	42,3°C	40,4°C
	$\bar{X} \pm SD$	38,92±0,25°C	39,75±2,21°C	38,50±1,38°C
4. sat	Min	38,8°C	39,5°C	34,6°C
	Max	39,2°C	41,7°C	40,3°C
	$\bar{X} \pm SD$	39,03±0,18°C	40,37±0,74°C	38,54±1,76°C
5. sat	Min	38,5°C	38,8°C	38,4°C
	Max	39,5°C	42,3°C	41,2°C
	$\bar{X} \pm SD$	39,00±0,33°C	39,99±1,07°C	39,82±0,87°C
6. sat	Min	38,6°C	38,5°C	38,9°C
	Max	39,4°C	40,4°C	41,2°C
	$\bar{X} \pm SD$	38,94±0,27°C	39,41±0,66°C	39,95±0,69°C
7. sat	Min	38,7°C	39,8°C	34,2°C
	Max	39,4°C	42,0°C	40,1
	$\bar{X} \pm SD$	39,01±0,27°C	40,66±0,79	37,99±1,98°C
8. sat	Min	38,3°C	39,9°C	34,4°C
	Max	39,2°C	41,6°C	38,6°C
	$\bar{X} \pm SD$	38,82±0,29°C	40,35±0,64°C	37,26±1,43
$\Sigma$	Min	38,8°C	39,41°C	37,3°C
	Max	39,2°C	41,05°C	41,7°C
	$\bar{X} \pm SD$	39,00±0,11°C	40,13±0,52°C	38,99±1,30°C



Tabela 5. Telesna temperatura pacova u sredini sa temperaturom 12°C žrtvovanih posle 24 sata

Vreme trajanja eksperimenta	Telesna temperatura	Kontrolna grupa	Eksperimentalne grupe	
			20 mg/kg MDMA	40 mg/kg MDMA
Početak eksperimenta	Min	36,1°C	36,7°C	36,4°C
	Max	37,7°C	38,8°C	37,6°C
	$\bar{X} \pm SD$	37,09±0,55°C	37,61±0,66°C	37,20±0,36°C
1. sat	Min	37,2°C	36,5°C	36,5°C
	Max	38,5°C	39,6°C	38,1°C
	$\bar{X} \pm SD$	38,04±0,50°C	37,97±1,25°C	37,37±0,60°C
2. sat	Min	37,5°C	37,3°C	37,3°C
	Max	38,6°C	40,8°C	39,2°C
	$\bar{X} \pm SD$	37,95±0,36°C	38,90±1,33°C	38,45±0,57°C
3. sat	Min	37,3°C	37,6°C	37,8°C
	Max	38,2°C	40,2°C	40,0°C
	$\bar{X} \pm SD$	37,80±0,30°C	38,81±0,95°C	38,70±0,81°C
4. sat	Min	37,1°C	37,4°C	35,9°C
	Max	38,6°C	39,8°C	39,9°C
	$\bar{X} \pm SD$	37,67±0,47°C	38,60±0,90°C	38,30±1,22°C
5. sat	Min	36,4°C	35,9°C	36,2°C
	Max	37,8°C	39,5°C	39,7°C
	$\bar{X} \pm SD$	37,47±0,46	37,99±1,05°C	38,00±1,04°C
6. sat	Min	37,2°C	34,6°C	36,4°C
	Max	38,0°C	39,2°C	37,9°C
	$\bar{X} \pm SD$	37,57±0,25°C	37,39±1,30°C	37,11±0,47°C
7. sat	Min	36,9°C	33,0°C	36,8°C
	Max	37,6°C	38,7°C	38,2°C
	$\bar{X} \pm SD$	37,41±0,25°C	36,87±1,75°C	37,45±0,47°C
8. sat	Min	37,0°C	32,6°C	37,0°C
	Max	37,7°C	37,9°C	38,1°C
	$\bar{X} \pm SD$	37,37±0,24°C	36,66±1,82°C	37,50±0,40°C
12. sat	Min	36,9°C	34,1°C	37,3°C
	Max	37,4°C	38,3°C	38,2°C
	$\bar{X} \pm SD$	37,32±0,18°C	37,09±1,36°C	37,72±0,34°C
18. sat	Min	36,9°C	36,9°C	36,5°C
	Max	37,4°C	38,0°C	37,9°C
	$\bar{X} \pm SD$	37,16±0,18°C	37,39±0,34°C	37,24±0,45°C
24. sat	Min	36,4°C	36,7°C	36,2°C
	Max	37,3°C	38,2°C	38,2°C
	$\bar{X} \pm SD$	36,89±0,32°C	37,39±0,49°C	37,10±0,58°C
$\Sigma$	Min	36,9°C	36,7°C	37,1°C
	Max	38,0°C	38,9°C	38,7°C
	$\bar{X} \pm SD$	37,48±0,35	37,72±0,74	37,68±0,56

Tabela 6. Telesna temperatura pacova u sredini sa temperaturom 22°C žrtvovanih posle 24 časa

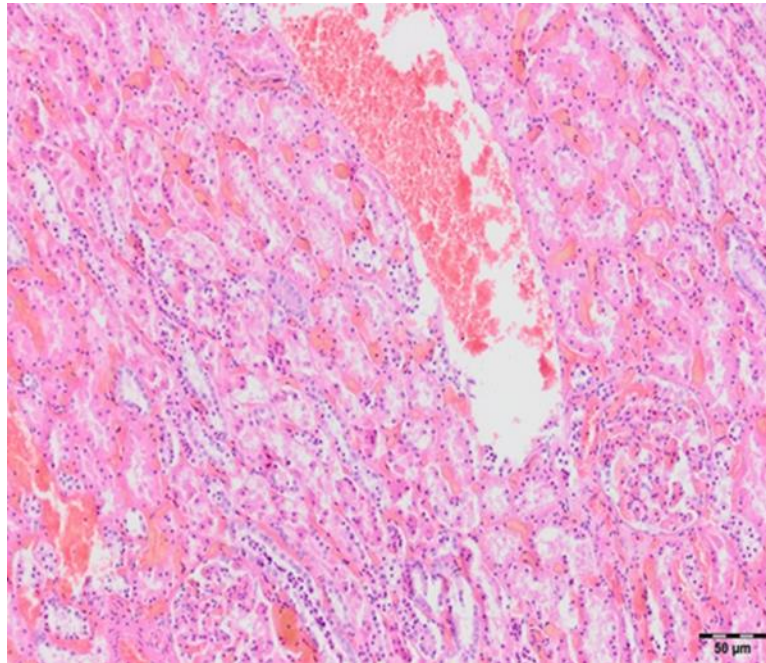
Vreme trajanja eksperimenta	Telesna temperatura	Kontrolna grupa	Eksperimentalne grupe	
			20 mg/kg MDMA	40 mg/kg MDMA
Početak eksperimenta	Min	36,3°C	36,3°C	35,9°C
	Max	37,4°C	37,1°C	37,1°C
	$\bar{X} \pm SD$	36,77±0,36°C	36,84±0,29°C	36,44±0,39°C
1. sat	Min	37,2°C	37,7°C	39,3°C
	Max	38,1°C	40,6°C	40,8°C
	$\bar{X} \pm SD$	37,71±0,35°C	39,64±0,90°C	40,00±0,48°C
2. sat	Min	37,0°C	38,9°C	39,0°C
	Max	38,5°C	40,9°C	41,4°C
	$\bar{X} \pm SD$	37,92±0,51°C	40,00±0,56°C	40,19±0,83°C
3. sat	Min	37,1°C	38,3°C	38,3°C
	Max	38,1°C	40,9°C	40,7°C
	$\bar{X} \pm SD$	37,77±0,30°C	39,63±0,87°C	39,60±0,80
4. sat	Min	36,8°C	38,0°C	38,1°C
	Max	38,3°C	40,7°C	40,9°C
	$\bar{X} \pm SD$	37,64±0,51°C	39,51±0,78°C	39,41±0,92°C
5. sat	Min	37,1°C	38,1°C	36,9°C
	Max	38,2°C	41,1°C	40,7°C
	$\bar{X} \pm SD$	37,72±0,34°C	39,23±0,97°C	38,64±1,44°C
6. sat	Min	37,1°C	38,2°C	34,1°C
	Max	38,3°C	40,3°C	40,4°C
	$\bar{X} \pm SD$	37,60±0,44°C	39,07±0,72°C	37,97±2,13°C
7. sat	Min	36,9°C	37,8°C	37,2°C
	Max	38,6°C	40,0°C	40,7°C
	$\bar{X} \pm SD$	37,66±0,56°C	38,61±0,78°C	38,84±1,24°C
8. sat	Min	37,2°C	38°C	37,5°C
	Max	38,1°C	39,6°C	39,9°C
	$\bar{X} \pm SD$	37,69±0,30°C	38,41±0,51°C	38,74±0,92
12. sat	Min	37,1°C	37,0°C	36,5°C
	Max	38,2°C	38,3°C	38,8°C
	$\bar{X} \pm SD$	37,71±0,42°C	37,99±0,44°C	37,80±0,79°C
18. sat	Min	36,8°C	37,3°C	37,1°C
	Max	38,3°C	38,1°C	38,7°C
	$\bar{X} \pm SD$	37,47±0,49°C	37,61±0,29°C	38,00±0,49°C
24. sat	Min	36,5°C	37,2°C	36,4°C
	Max	37,5°C	37,9°C	39,0°C
	$\bar{X} \pm SD$	37,05±0,28	37,41±0,23°C	37,95±0,85°C
$\Sigma$	Min	36,8°C	36,8°C	36,4°C
	Max	37,9°C	40,0°C	40,2°C
	$\bar{X} \pm SD$	37,56±0,33	38,66±1,02	38,63±1,07

Tabela 7. Telesna temperatura pacova u sredini sa temperaturom 32°C žrtvovanih posle 24 sata

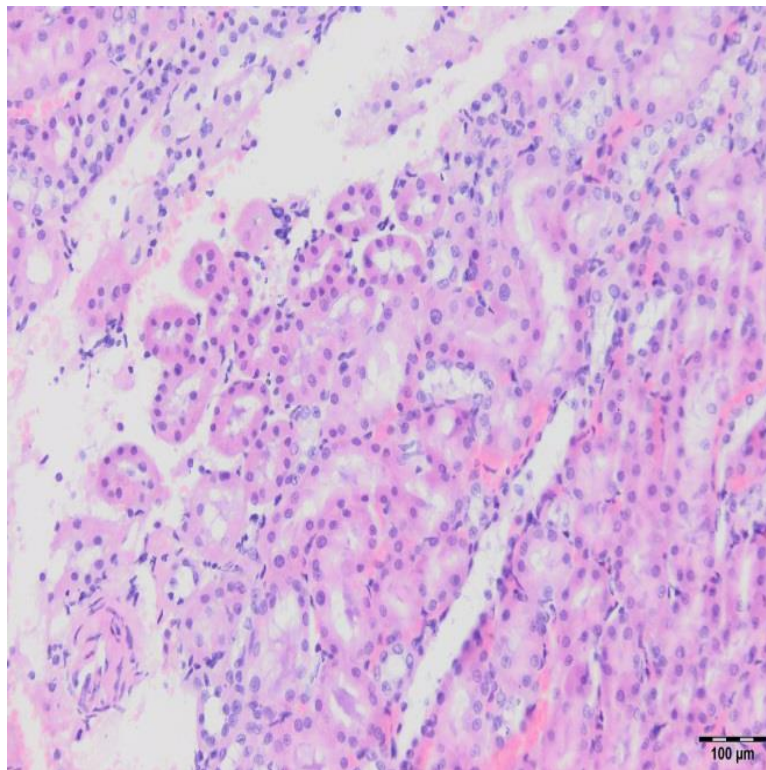
Vreme trajanja eksperimenta	Telesna temperatura	Kontrolna grupa	Eksperimentalne grupe	
			20 mg/kg MDMA	40 mg/kg MDMA
Početak eksperimenta	Min	37,5°C	37,4°C	37,2°C
	Max	38,2°C	38,0°C	38,3°C
	$\bar{X} \pm SD$	37,87±0,24°C	37,72±0,18°C	37,80±0,44°C
1. sat	Min	38,2°C	38,8°C	37,4°C
	Max	39,2°C	41,0°C	41,5°C
	$\bar{X} \pm SD$	38,81±0,30°C	39,97±0,83	39,66±1,32°C
2. sat	Min	38,2°C	37,8°C	36,1°C
	Max	39,3°C	41,0°C	41,7°C
	$\bar{X} \pm SD$	38,82±0,38°C	39,79±1,07°C	39,10±2,13°C
3. sat	Min	38,2°C	40,2°C	37,2°C
	Max	39,1°C	41,2°C	41,7°C
	$\bar{X} \pm SD$	38,70±0,36°C	40,80±0,37°C	39,47±1,76°C
4. sat	Min	38,1°C	40,3°C	38,0°C
	Max	39,0°C	41,5°C	41,8°C
	$\bar{X} \pm SD$	38,70±0,31°C	40,80±0,41°C	39,67±1,62°C
5. sat	Min	38,0°C	40,2°C	38,2°C
	Max	38,9°C	41,9°C	41,0°C
	$\bar{X} \pm SD$	38,54±0,29°C	40,62±0,61°C	39,36±0,99°C
6. sat	Min	37,8°C	38,8°C	39,8°C
	Max	38,7°C	41,4°C	41,3°C
	$\bar{X} \pm SD$	38,26±0,35	40,24±0,98°C	40,45±0,56°C
7. sat	Min	37,9°C	38,1°C	39,9°C
	Max	39,0°C	40,8°C	41,0°C
	$\bar{X} \pm SD$	38,49±0,40°C	39,32±1,04°C	40,31±0,41°C
8. sat	Min	37,7°C	37,8°C	36,7°C
	Max	38,9°C	40,3°C	40,2°C
	$\bar{X} \pm SD$	38,45±0,42°C	38,90±1,02°C	39,50±1,15°C
12. sat	Min	36,6°C	37,1°C	36,1°C
	Max	38,7°C	38,7°C	41,0°C
	$\bar{X} \pm SD$	37,59±0,61	38,07±0,59°C	39,46±1,47°C
18. sat	Min	37,0°C	37,3°C	34,8°C
	Max	37,7°C	38,0°C	38,8°C
	$\bar{X} \pm SD$	37,30±0,25°C	37,76±0,24°C	37,57±1,25°C
24. sat	Min	36,9°C	37,4°C	37,4°C
	Max	38,0°C	39,7°C	40,1°C
	$\bar{X} \pm SD$	37,56±0,41°C	38,27±0,68°C	38,26±0,97°C
$\Sigma$	Min	37,3°C	37,7°C	37,6°C
	Max	38,8°C	40,8°C	40,5°C
	$\bar{X} \pm SD$	38,26±0,54°C	39,36±1,18°C	39,22±0,90°C

## 5.2. PATOHISTOLOŠKE PROMENE U BUBREZIMA PACOVA

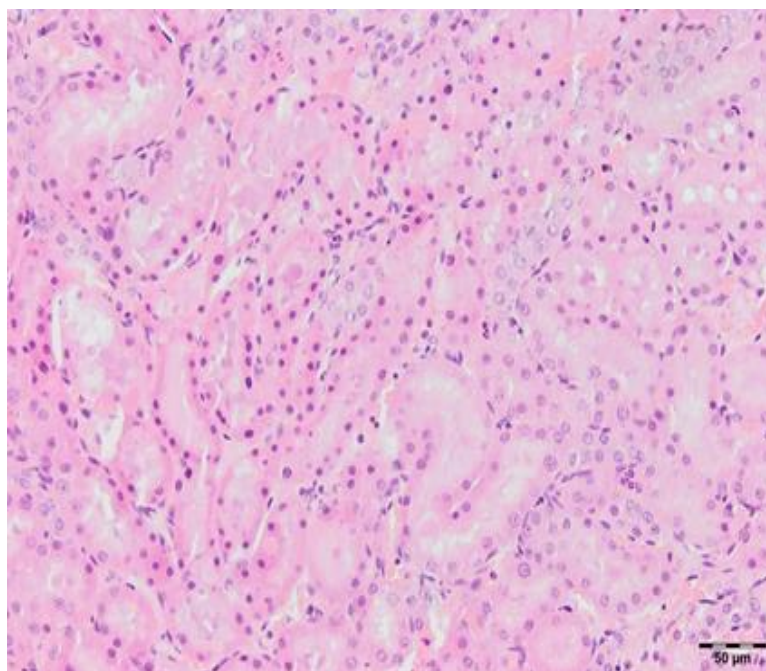
Patohistološkom analizom uzoraka tkiva bubrega pacova su ustanovljene sledeće patohistološke promene: venska kongestija (Slika 12), intersticijalni edem (Slika 13), reverzibilno oštećenje bubrežnih tubula (Slika 14), dilatacija bubrežnih tubula (Slika 15), epitelne ćelije u lumenu bubrežnih tubula (Slika 16), inflamatorni infiltrat (Slika 17), sadržaj u lumenu bubrežnih tubula (Slika 18), nekroza bubrežnih tubula (Slika 19) i fibroblastna proliferacija (Slika 20).



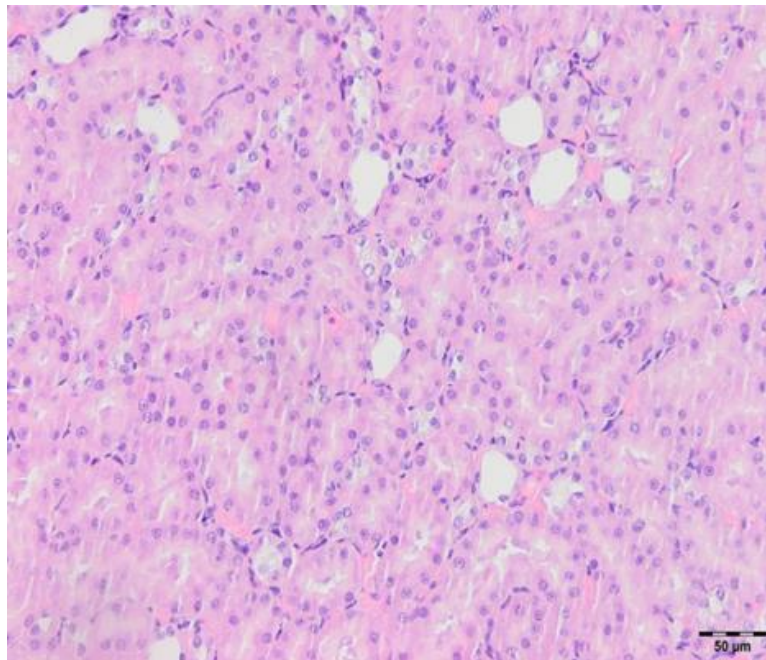
Slika 12. Venska kongestija (H&E, 200x)



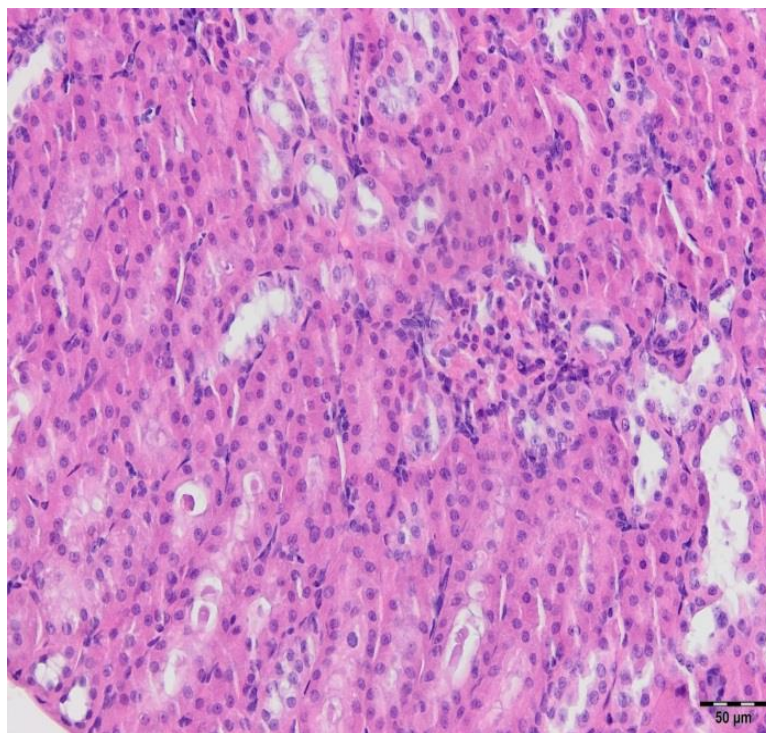
Slika 13. Intersticijalni edem (H&E, 40x)



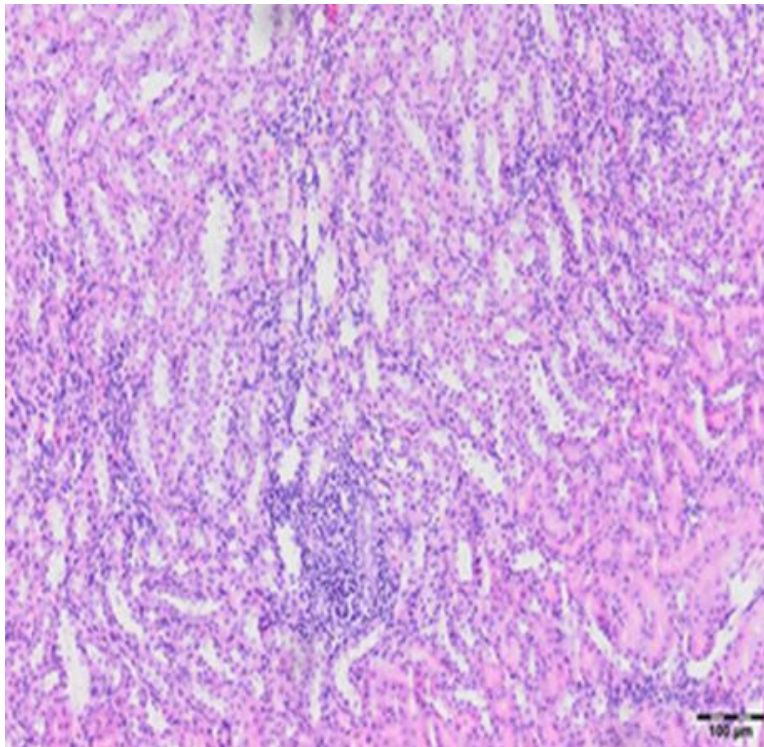
Slika 14. Reverzibilno oštećenje bubrežnih tubula (H&E, 200x)



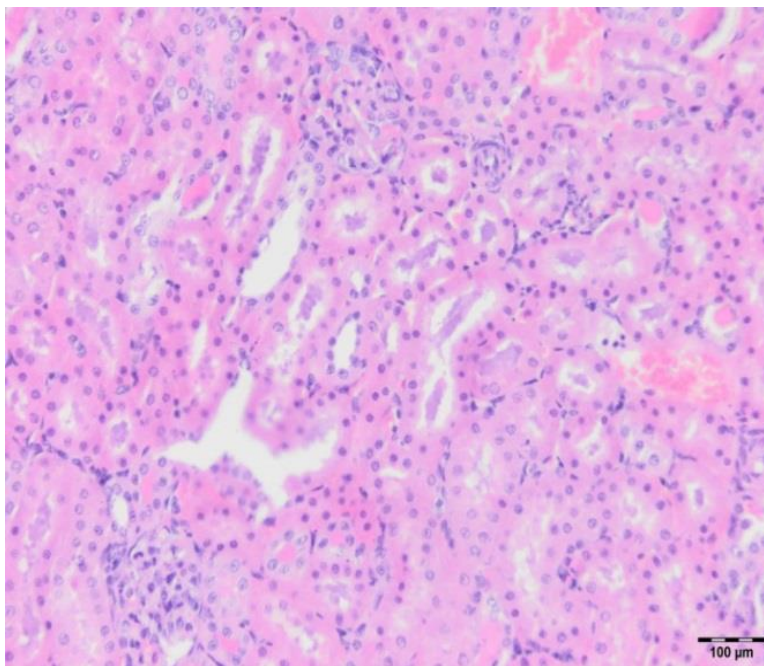
Slika 15. Dilatacija bubrežnih tubula (H&E, 200x)



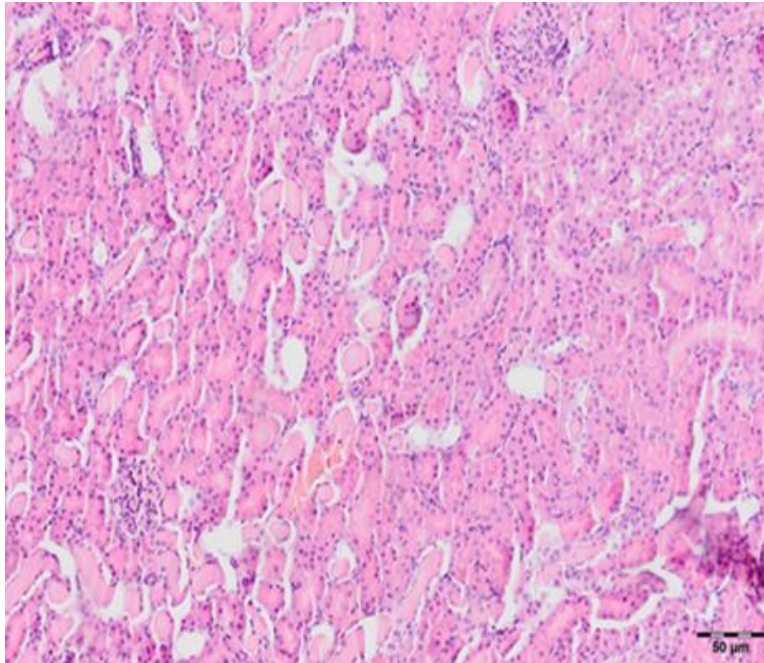
Slika 16. Epitelne ćelije u lumenu bubrežnih tubula (H&E, 200x)



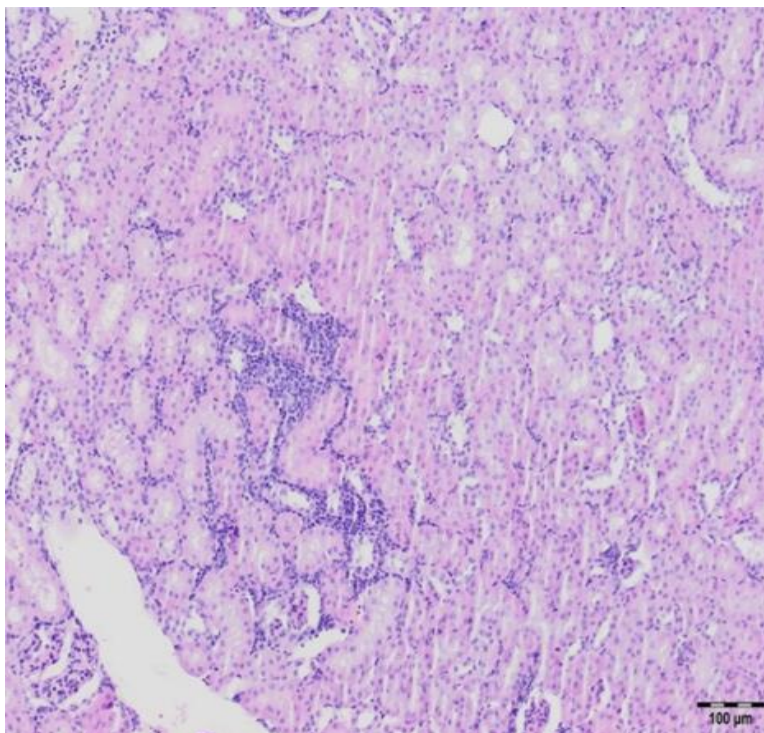
Slika 17. Inflamatorni infiltrat (H&E, 40x)



Slika 18. Sadržaj u lumenu bubrežnih tubula (H&E, 40x)



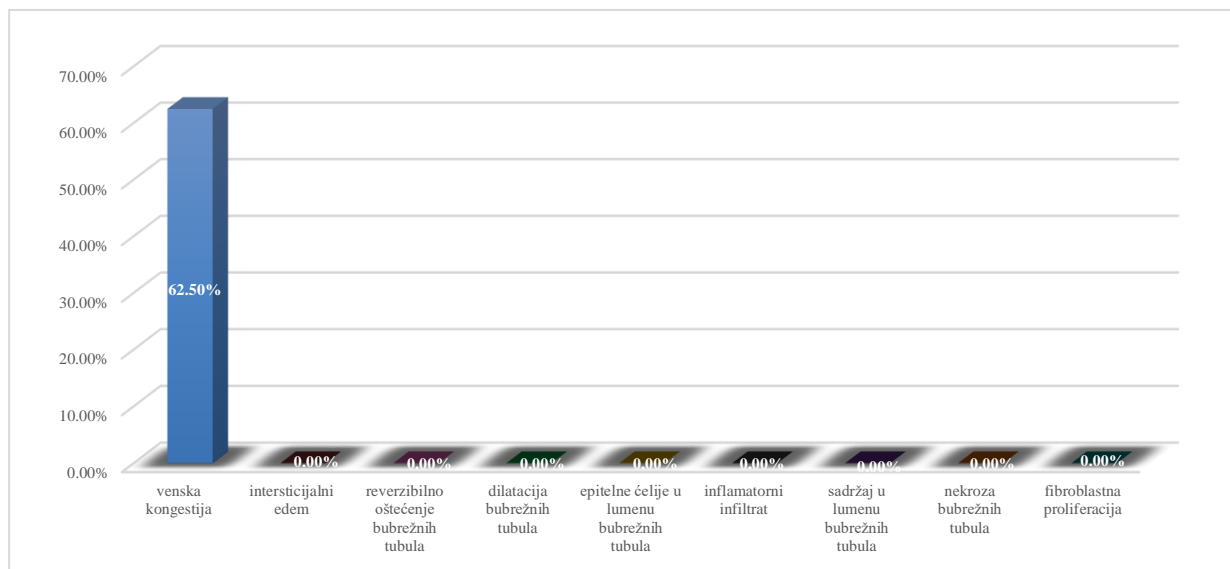
Slika 19. Nekroza bubrežnih tubula (H&E, 200x)



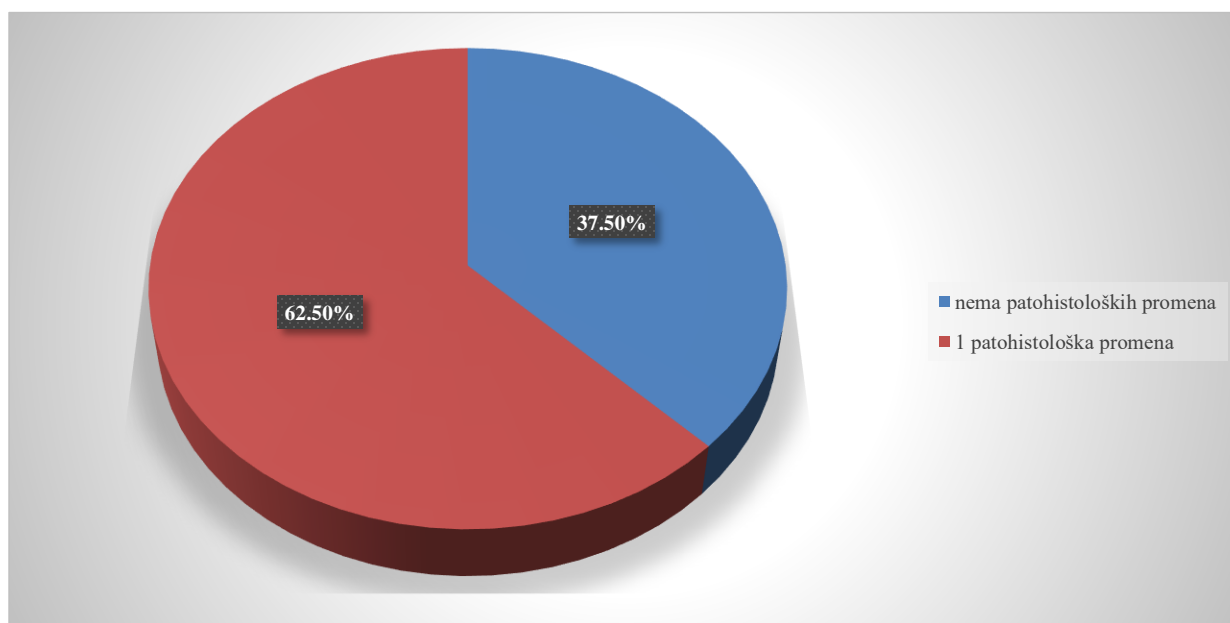
Slika 20. Fibroblastna proliferacija (H&E, 40x)



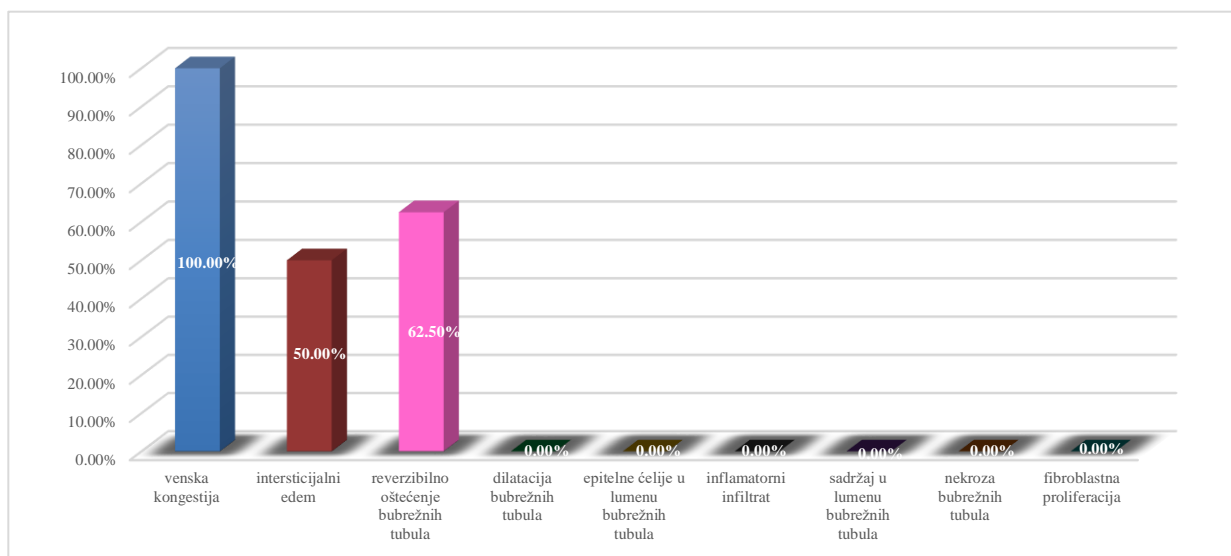
Vrste i procentualna zastupljenost patohistoloških promena u bubrežima pacova, kao i broj ustanovljenih različitih vrsta patohistoloških promena i procentualna zastupljenost pacova sa tim promenama u svim grupama je predstavljen grafikonima.



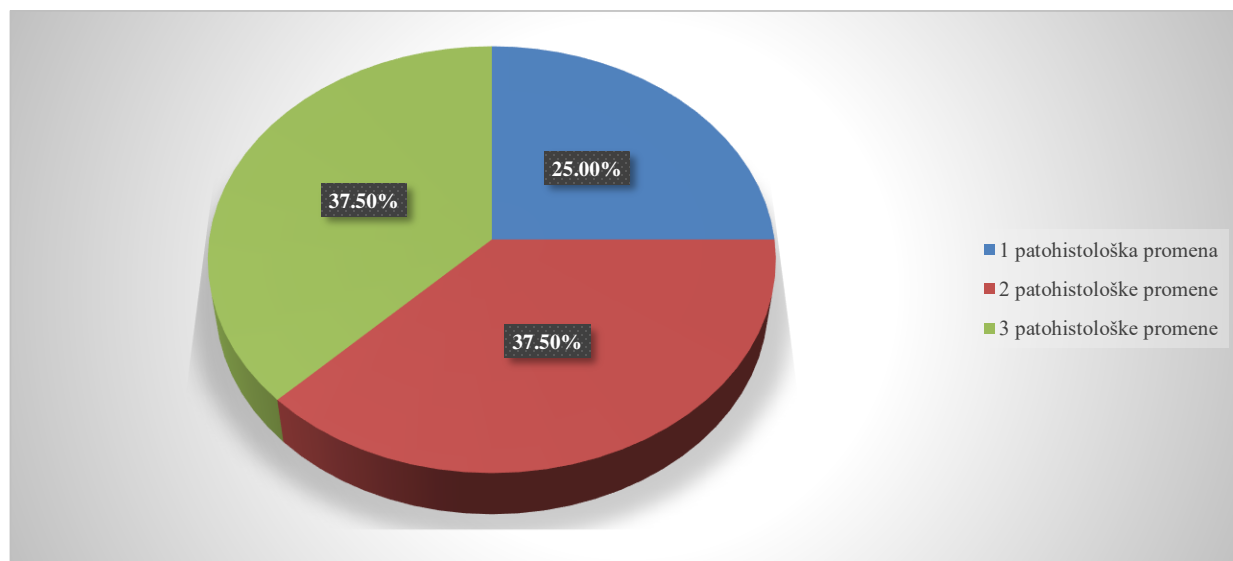
Grafikon 1. Vrste i procentualna zastupljenost patohistoloških promena u bubrežima pacova u kontrolnoj grupi u sredini sa temperaturom 12°C žrtvovanih posle 8 sati



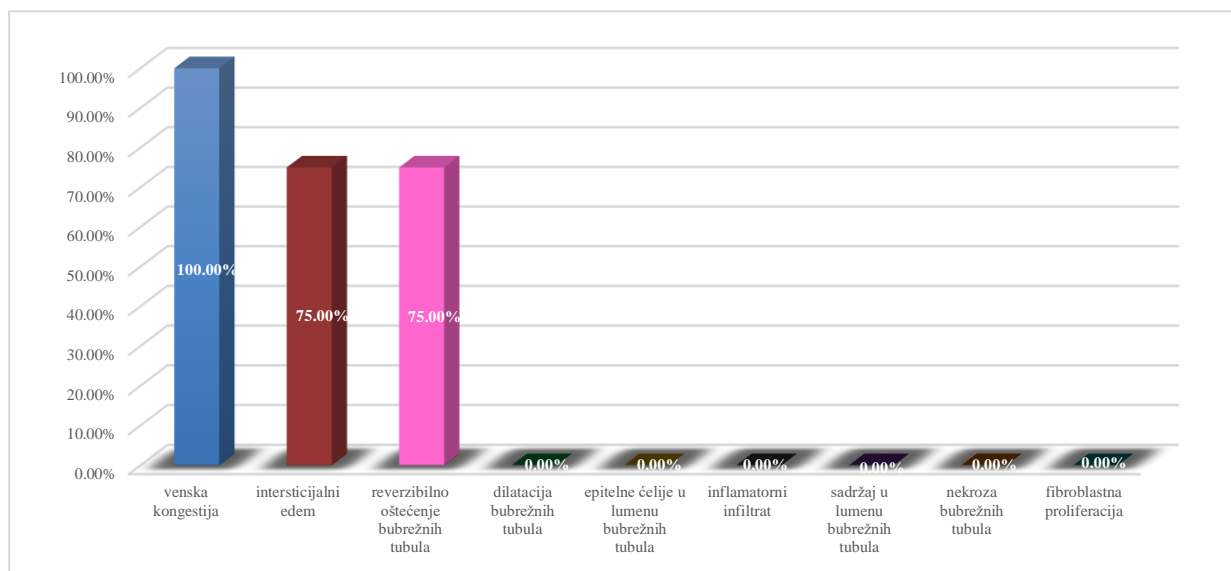
Grafikon 2. Broj ustanovljenih različitih patohistoloških promena i procentualna zastupljenost pacova sa tim promenama u kontrolnoj grupi u sredini sa temperaturom od 12°C žrtvovanih posle 8 sati



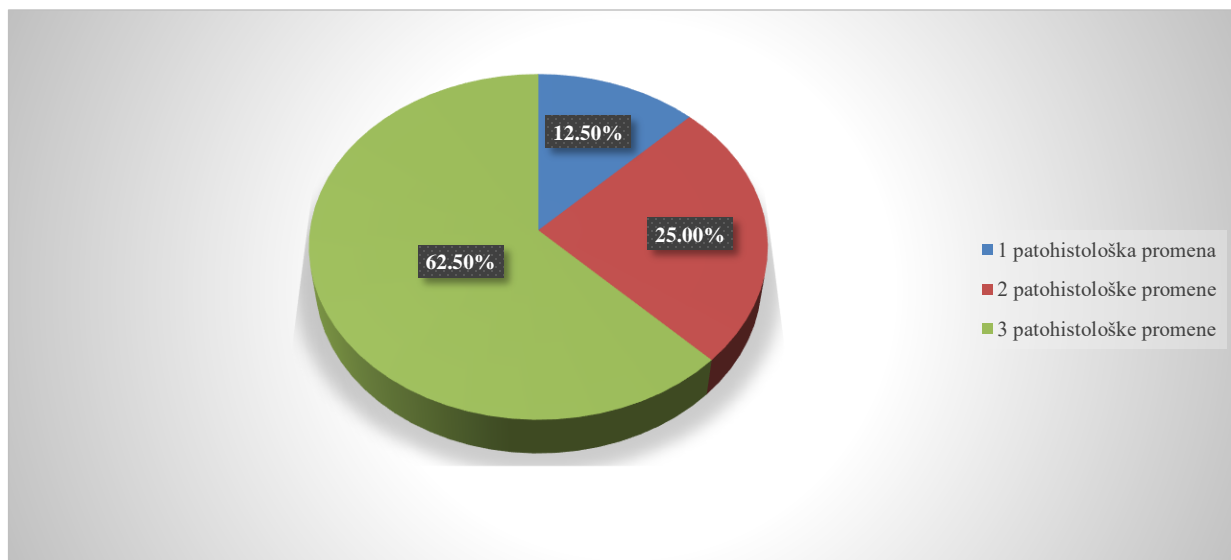
Grafikon 3. Vrste i procentualna zastupljenost patohistoloških promena u bubrezima pacova u eksperimentalnoj grupi (20 mg/kg MDMA) u sredini sa temperaturom 12°C žrtvovanih posle 8 sati



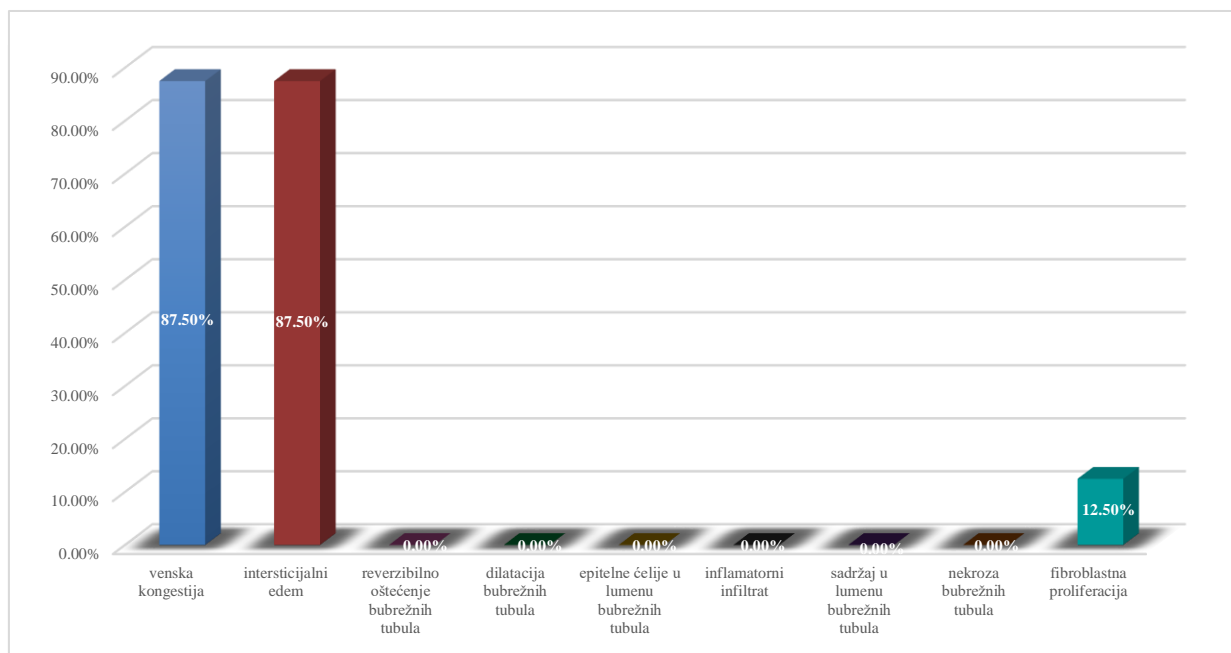
Grafikon 4. Broj ustanovljenih različitih patohistoloških promena i procentualna zastupljenost pacova sa tim promenama u eksperimentalnoj grupi (20 mg/kg MDMA) u sredini sa temperaturom 12°C žrtvovanih posle 8 sati



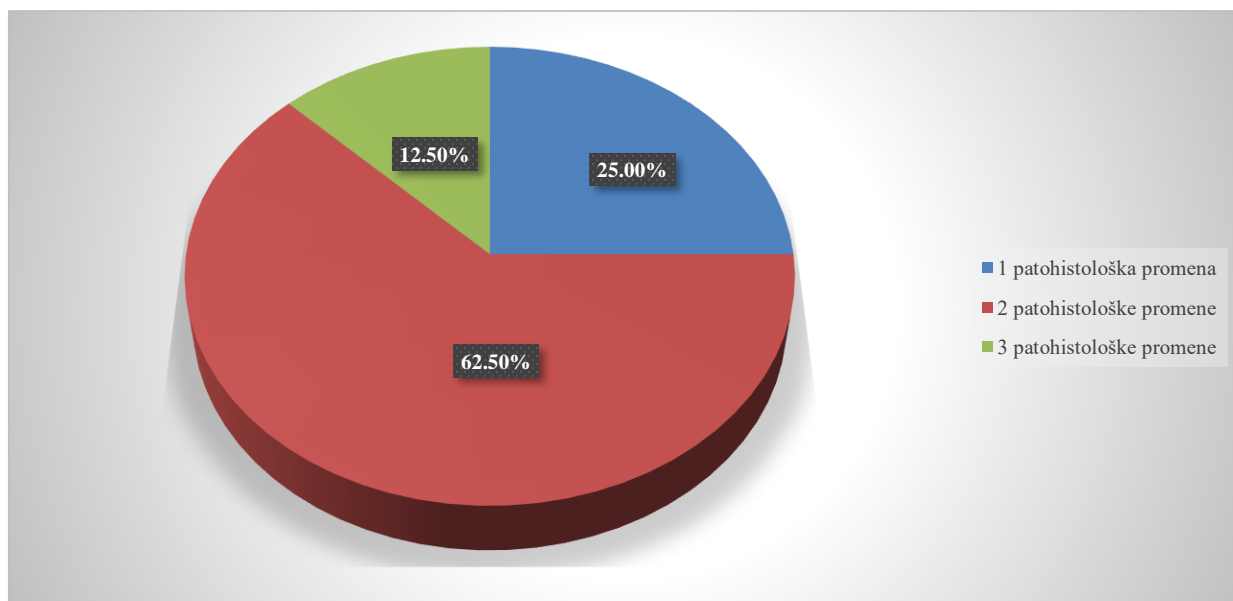
Grafikon 5. Vrste i procentualna zastupljenost patohistoloških promena u bubrežima pacova u eksperimentalnoj grupi (40 mg/kg MDMA) u sredini sa temperaturom 12°C žrtvovani posle 8 sati



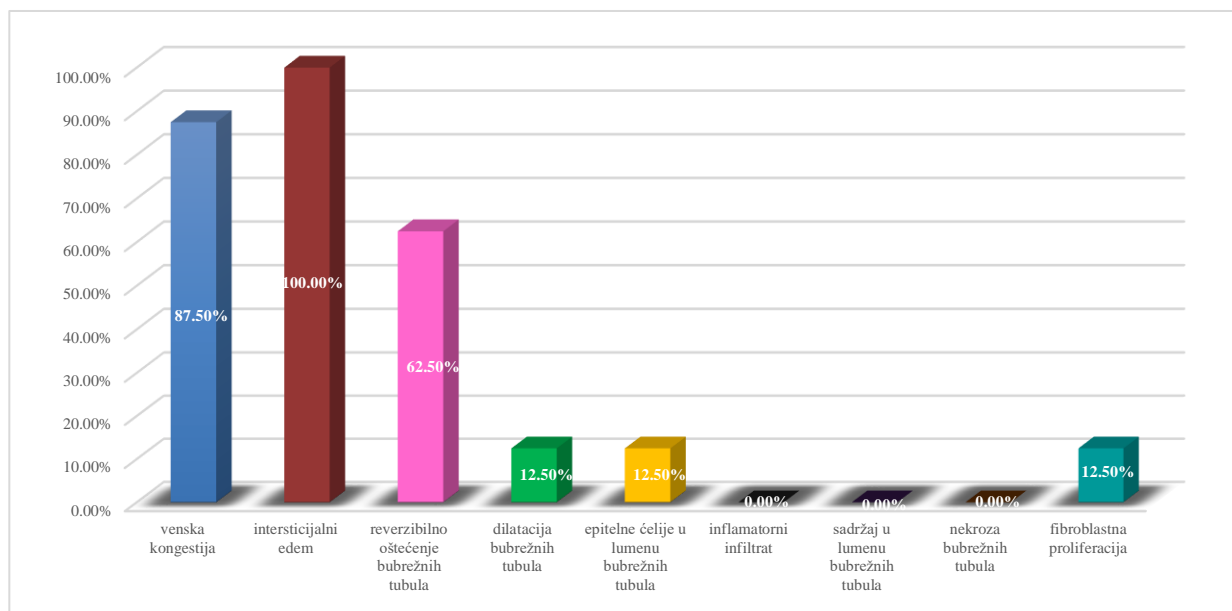
Grafikon 6. Broj ustanovljenih različitih patohistoloških promena i procentualna zastupljenost pacova sa tim promenama u eksperimentalnoj grupi (40 mg/kg MDMA) u sredini sa temperaturom 12°C žrtvovanih posle 8 sati



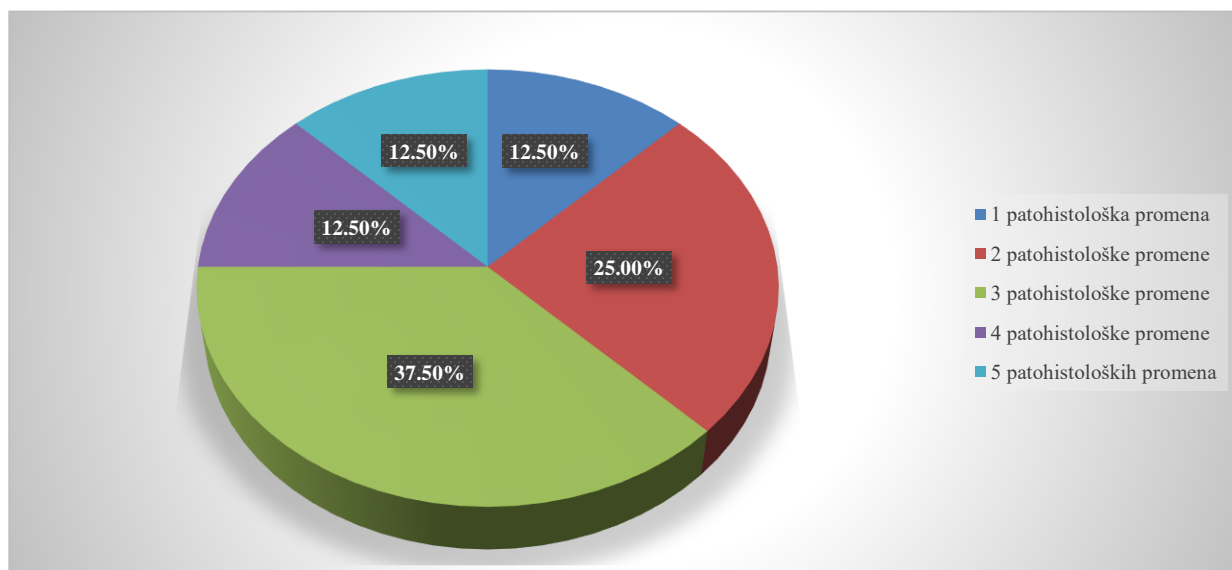
Grafikon 7. Vrste i procentualna zastupljenost patohistoloških promena u bubrezima pacova u kontrolnoj grupi u sredini sa temperaturom 22°C žrtvovani posle 8 sati



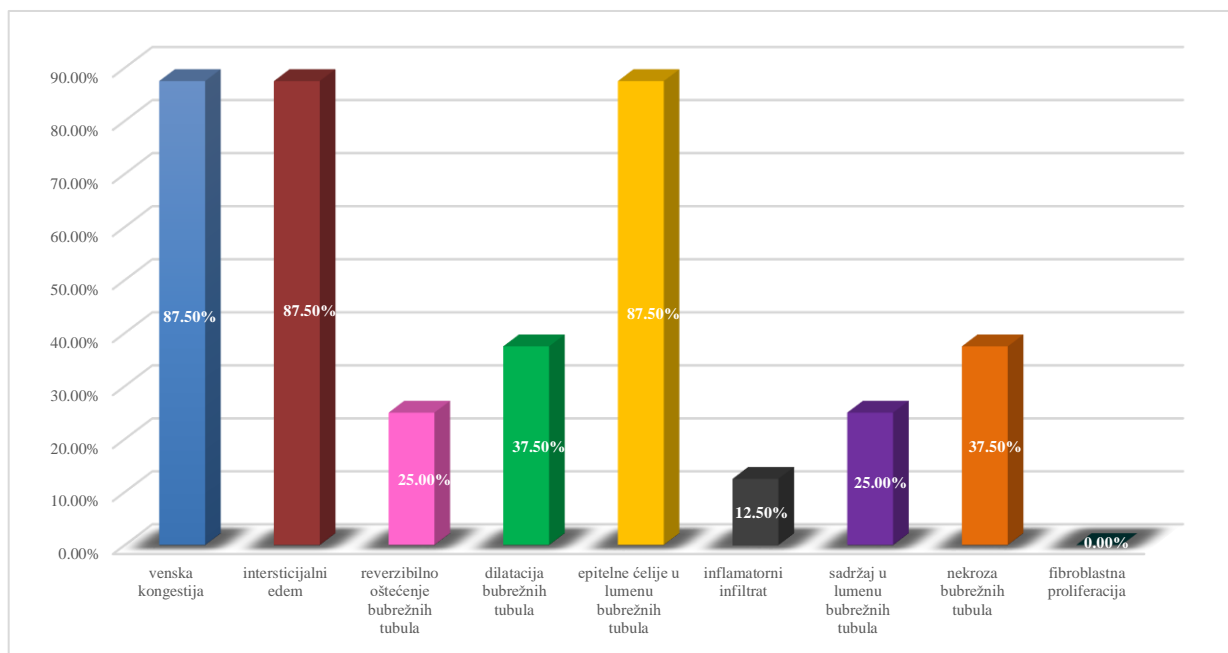
Grafikon 8. Broj ustanovljenih različitih patohistoloških promena i procentualna zastupljenost pacova sa tim promenama u kontrolnoj grupi u sredini sa temperaturom 22°C žrtvovanih posle 8 sati



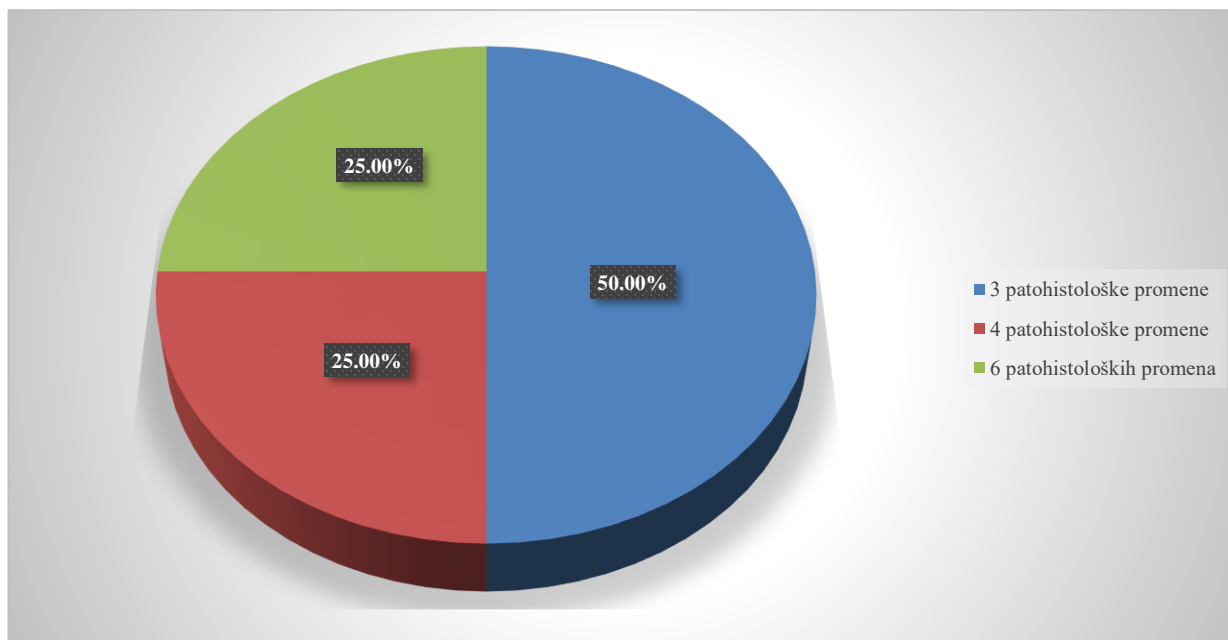
Grafikon 9. Vrste i procentualna zastupljenost patohistoloških promena u bubrezima pacova u eksperimentalnoj grupi (20 mg/kg MDMA) u sredini sa temperaturom 22°C žrtvovanih posle 8 sati



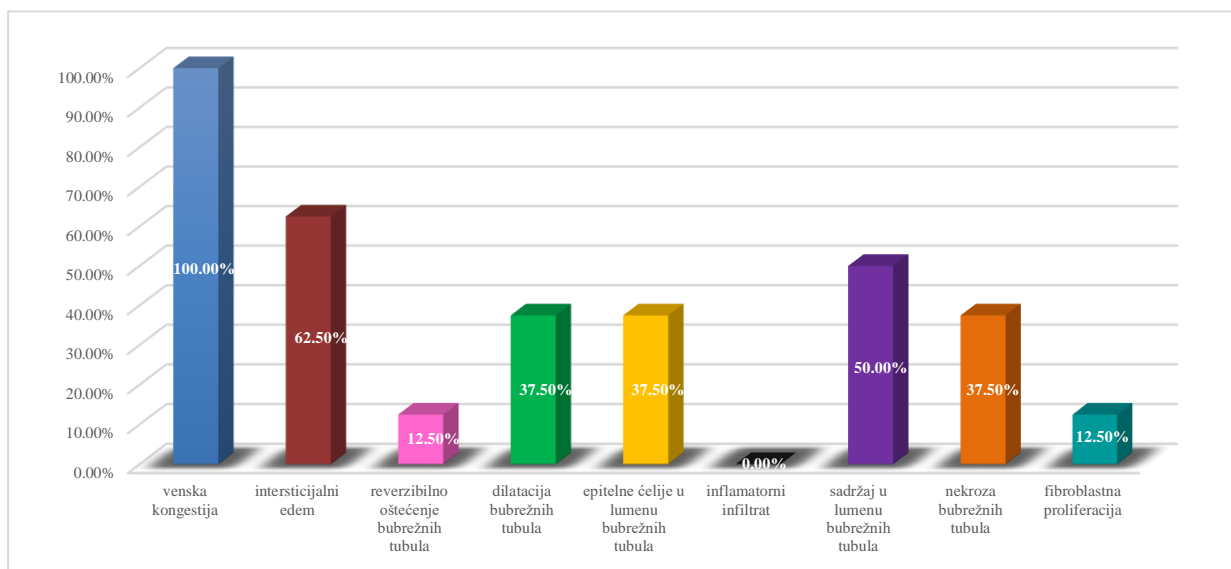
Grafikon 10. Broj ustanovljenih različitih patohistoloških promena i procentualna zastupljenost pacova sa tim promenama u eksperimentalnoj grupi (20 mg/kg MDMA) u sredini sa temperaturom 22°C žrtvovanih posle 8 sati



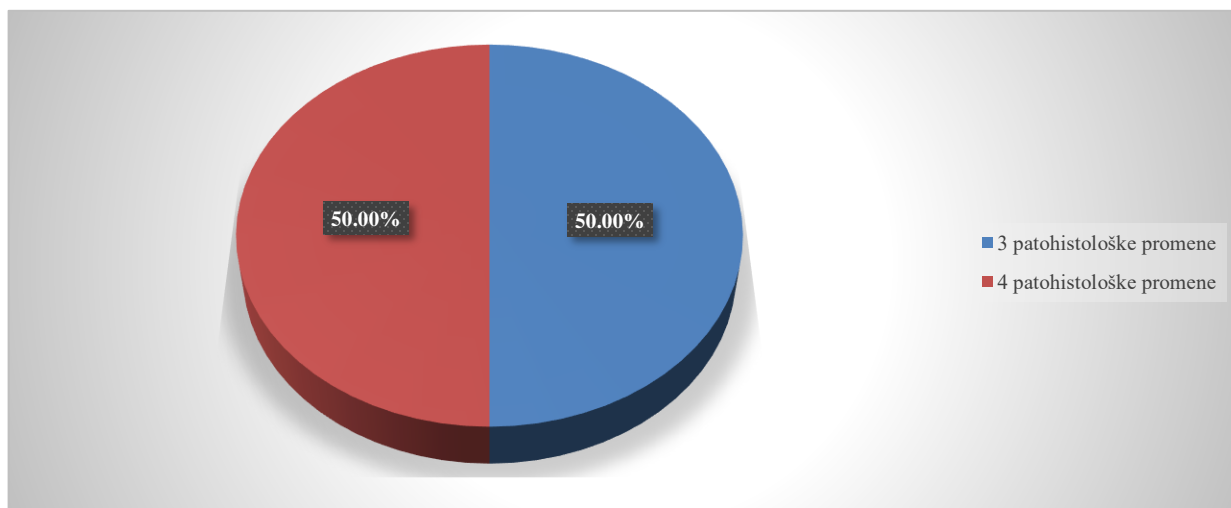
Grafikon 11. Vrste i procentualna zastupljenost patohistoloških promena u bubrežima pacova u eksperimentalnoj grupi (40 mg/kg MDMA) u sredini sa temperaturom 22°C žrtvovanih posle 8 sati



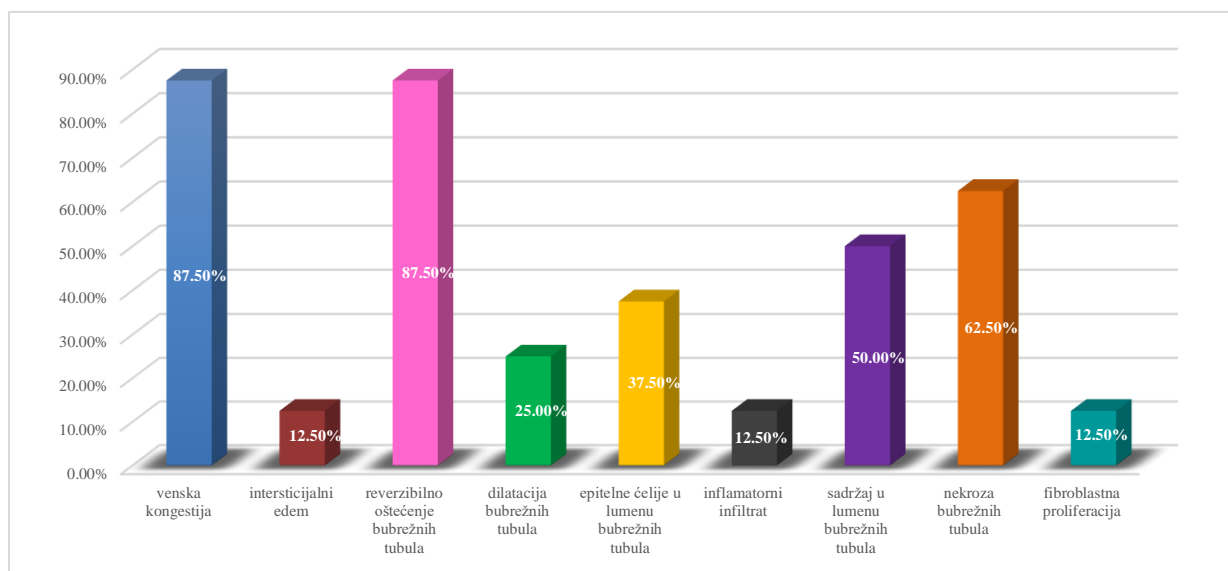
Grafikon 12. Broj različitih patohistoloških promena i procentualna zastupljenost pacova sa tim promenama u eksperimentalnoj grupi (40 mg/kg MDMA) u sredini sa temperaturom 22°C žrtvovanih posle 8 sati



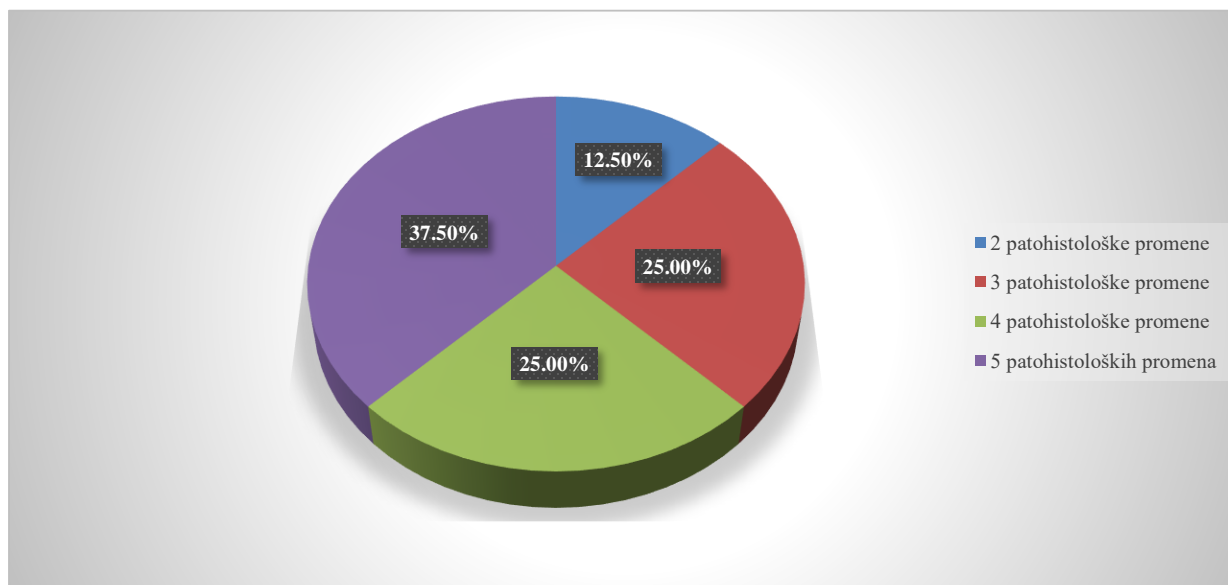
Grafikon 13. Vrste i procentualna zastupljenost patohistoloških promena u bubrežima pacova u kontrolnoj grupi u sredini sa temperaturom 32°C žrtvovanih posle 8 sati



Grafikon 14. Broj različitih patohistoloških promena i procentualna zastupljenost pacova sa tim promenama u kontrolnoj grupi u sredini sa temperaturom od 32°C žrtvovanih posle 8 sati

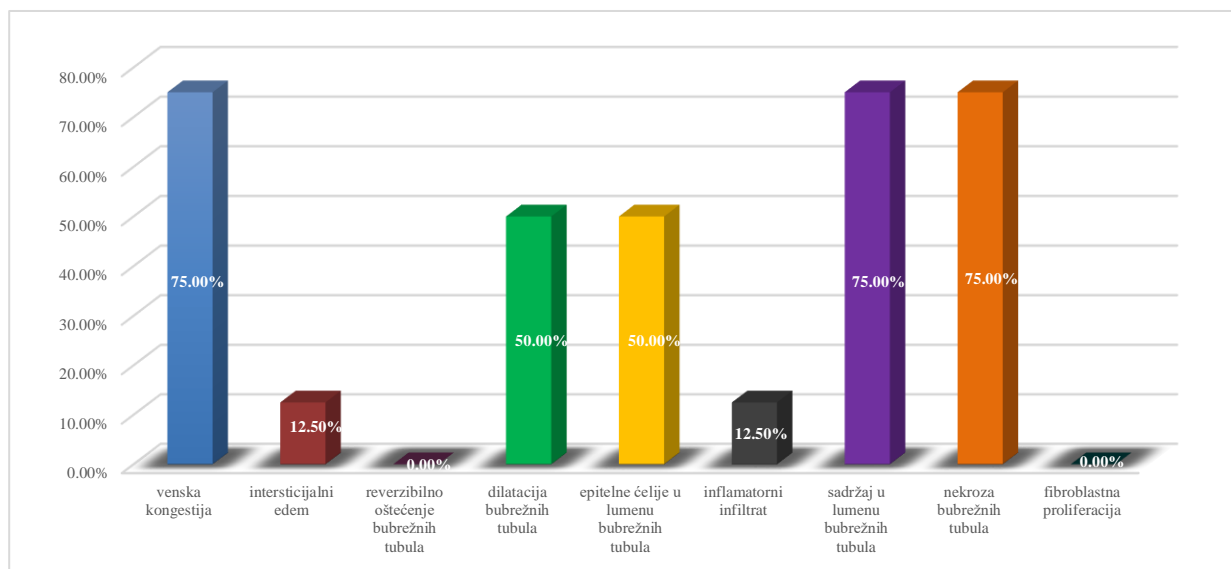


Grafikon 15. Vrste i procentualna zastupljenost patohistoloških promena u bubrežima pacova u eksperimentalnoj grupi (20 mg/kg MDMA) u sredini sa temperaturom 32°C žrtvovanih posle 8 sati

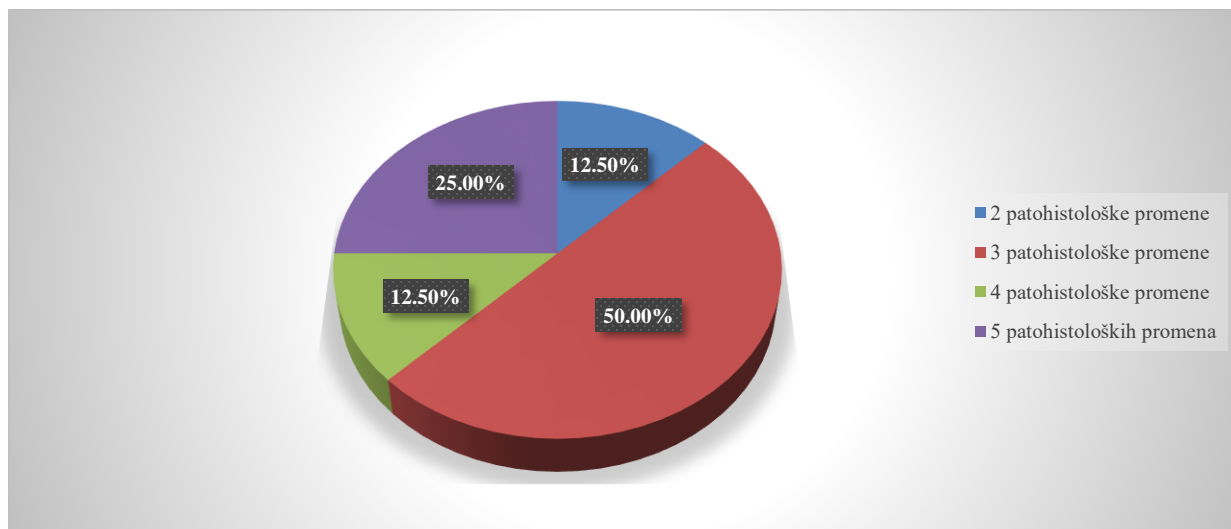


Grafikon 16. Broj različitih patohistoloških promena i procentualna zastupljenost pacova sa tim promenama u eksperimentalnoj grupi (20 mg/kg MDMA) u sredini sa temperaturom 32°C žrtvovanih posle 8 sati

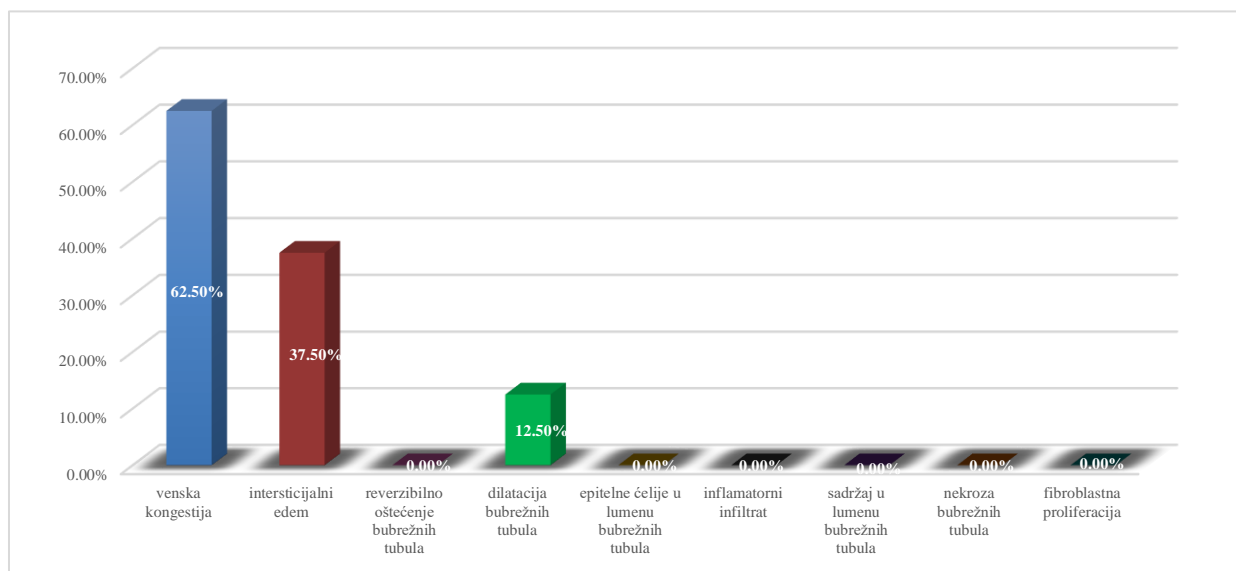




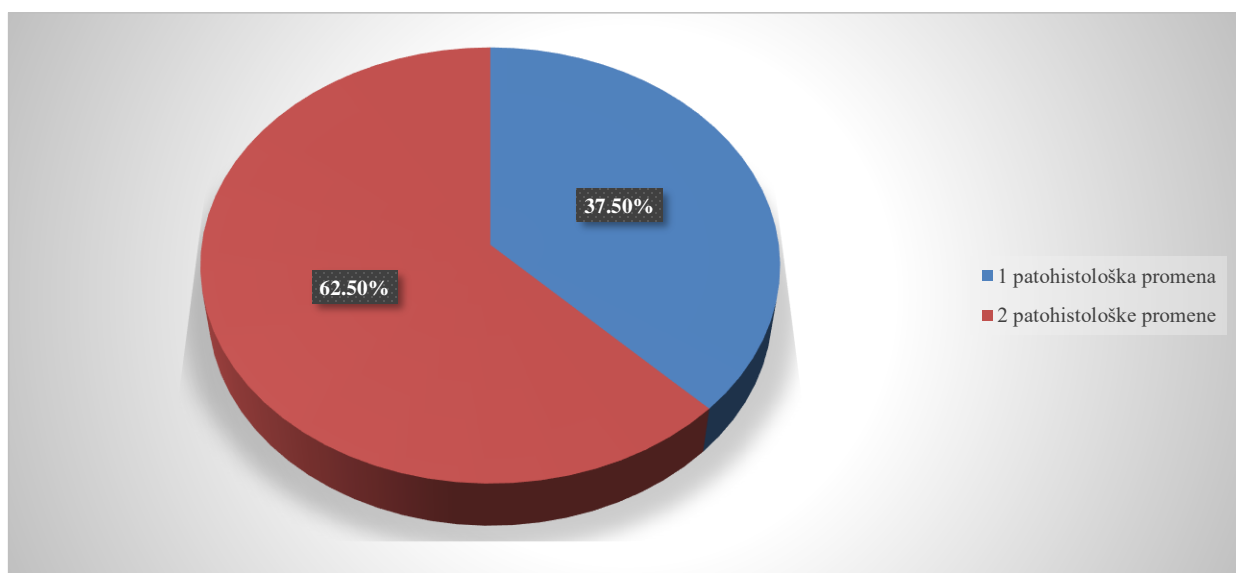
Grafikon 17. Vrste i procentualna zastupljenost patohistoloških promena u bubrežima pacova u eksperimentalnoj grupi (40 mg/kg MDMA) u sredini sa temperaturom 32°C žrtvovanih posle 8 sati



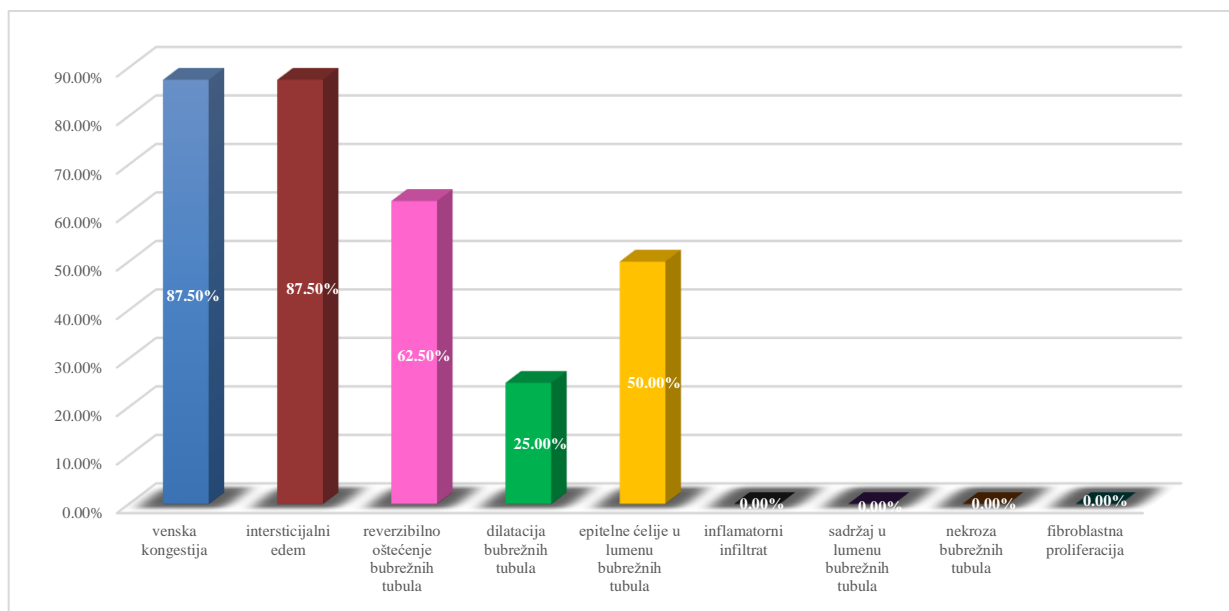
Grafikon 18. Broj različitih patohistoloških promena i procentualna zastupljenost pacova sa tim promenama u eksperimentalnoj grupi (40 mg/kg MDMA) u sredini sa temperaturom 32°C žrtvovanih posle 8 sati



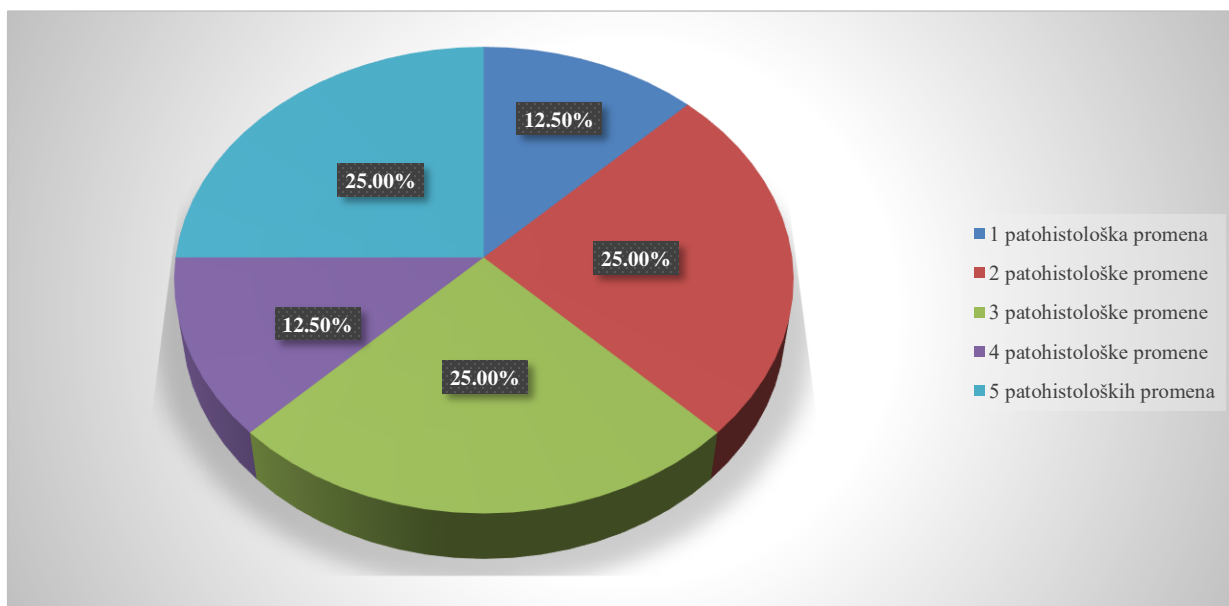
Grafikon 19. Vrste i procentualna zastupljenost patohistoloških promena u bubrezima pacova u kontrolnoj grupi u sredini sa temperaturom 12°C žrtvovanih posle 24 sata



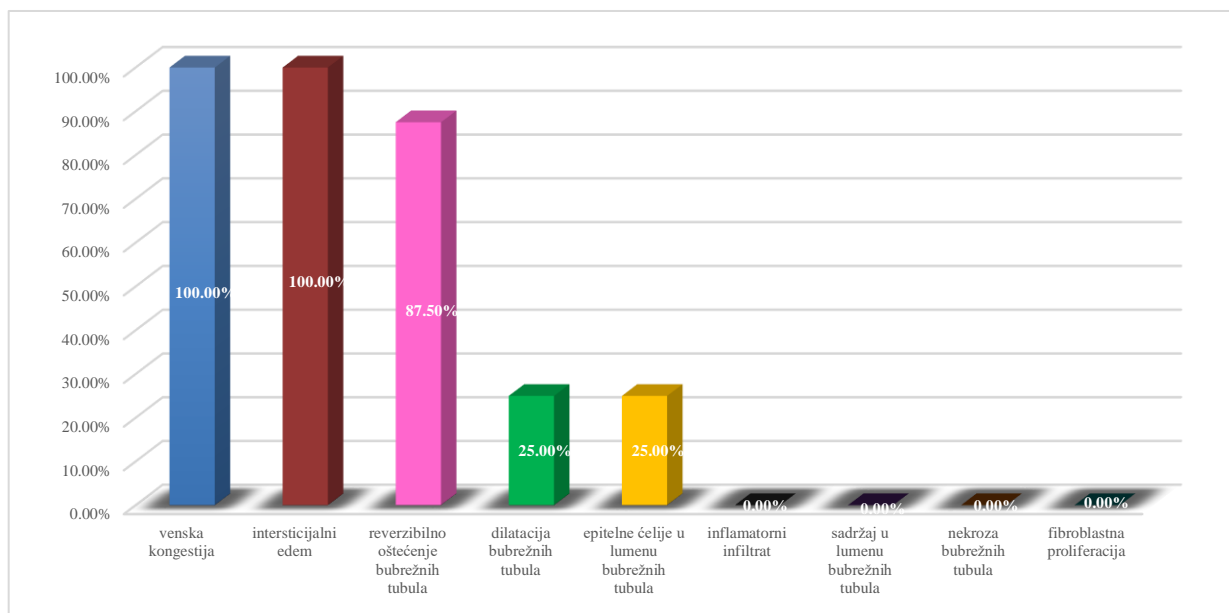
Grafikon 20. Broj različitih patohistoloških promena i procentualna zastupljenost pacova sa tim promenama u kontrolnoj grupi u sredini sa temperaturom 12°C žrtvovanih posle 24 sata



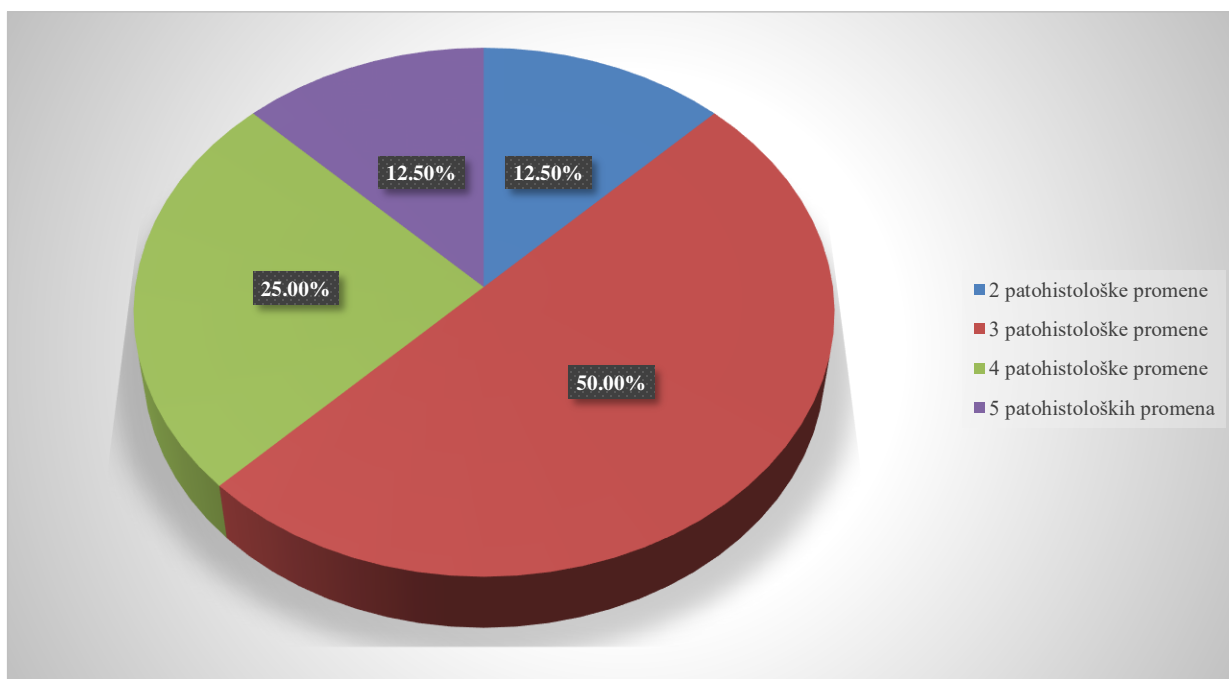
Grafikon 21. Vrste i procentualna zastupljenost patohistoloških promena u bubrežima pacova u eksperimentalnoj grupi (20 mg/kg MDMA) u sredini sa temperaturom 12°C žrtvovanih posle 24 sata



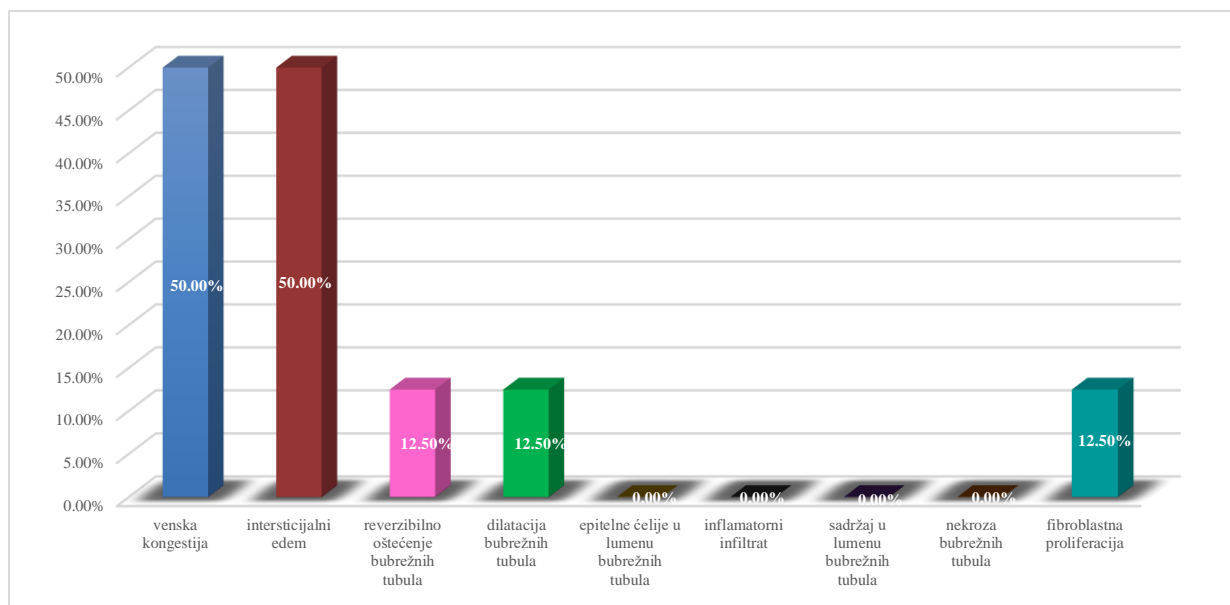
Grafikon 22. Broj različitih patohistoloških promena i procentualna zastupljenost pacova sa tim promenama u eksperimentalnoj grupi (20 mg/kg MDMA) u sredini sa temperaturom 12°C žrtvovanih posle 24 sata



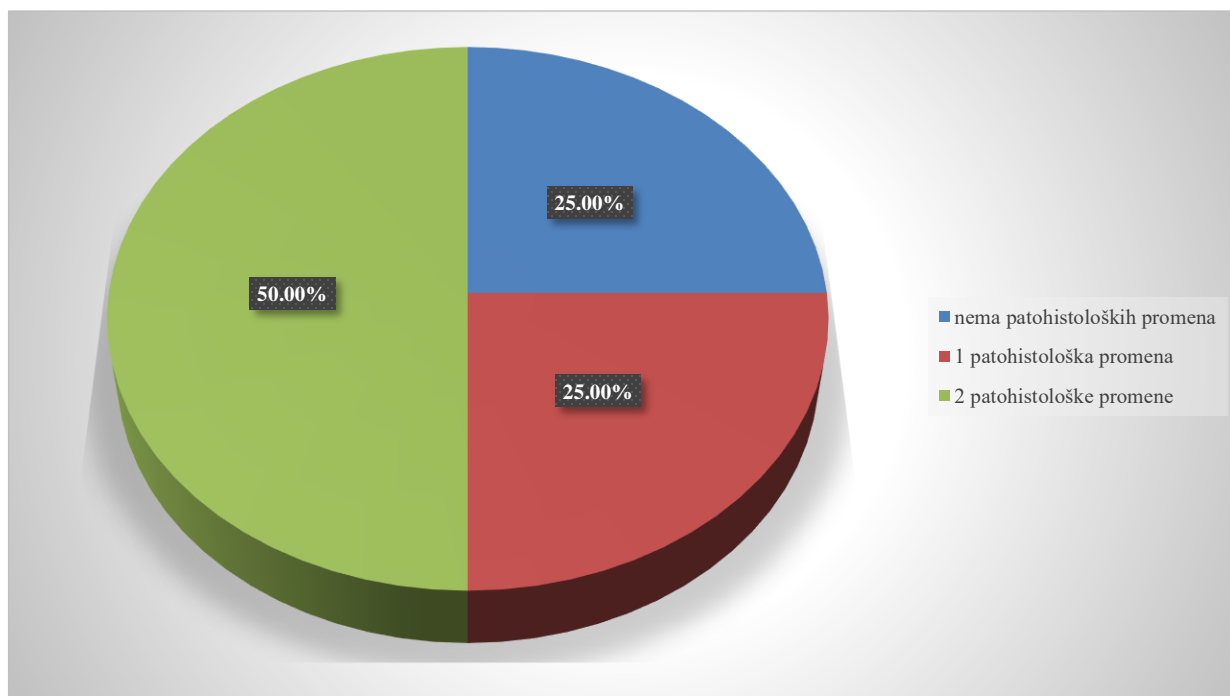
Grafikon 23. Vrste i procentualna zastupljenost patohistoloških promena u bubrežima pacova u eksperimentalnoj grupi (40 mg/kg MDMA) u sredini sa temperaturom 12°C žrtvovanih posle 24 sata



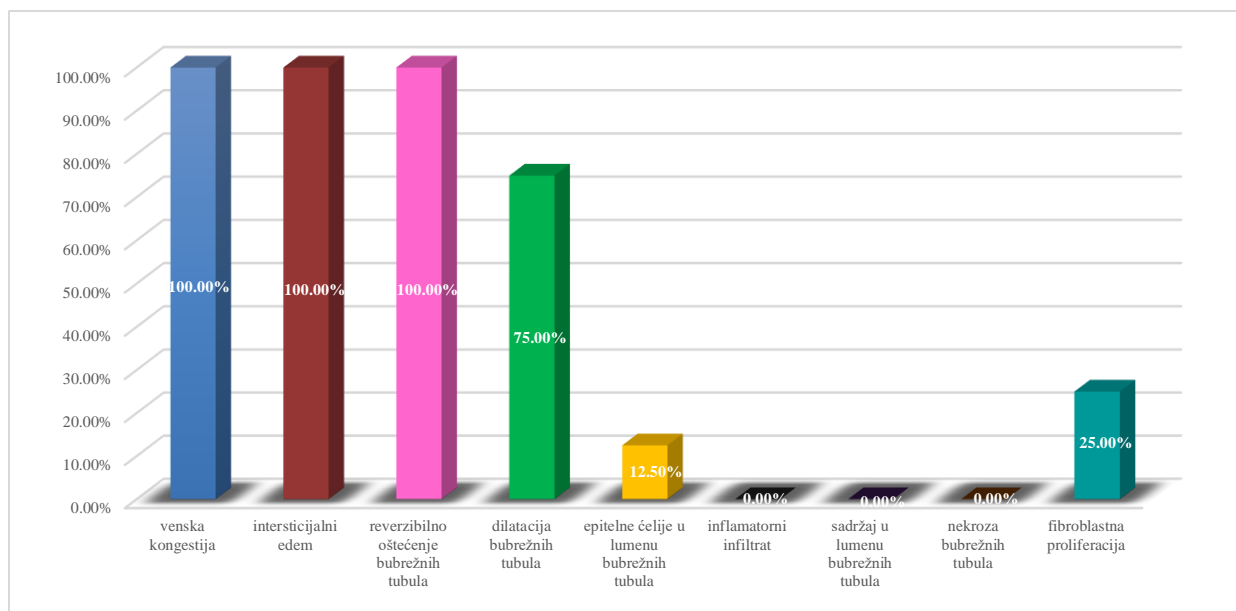
Grafikon 24. Broj različitih patohistoloških promena i procentualna zastupljenost pacova sa tim promenama u eksperimentalnoj grupi (40 mg/kg MDMA) u sredini sa temperaturom 12°C žrtvovanih posle 24 sata



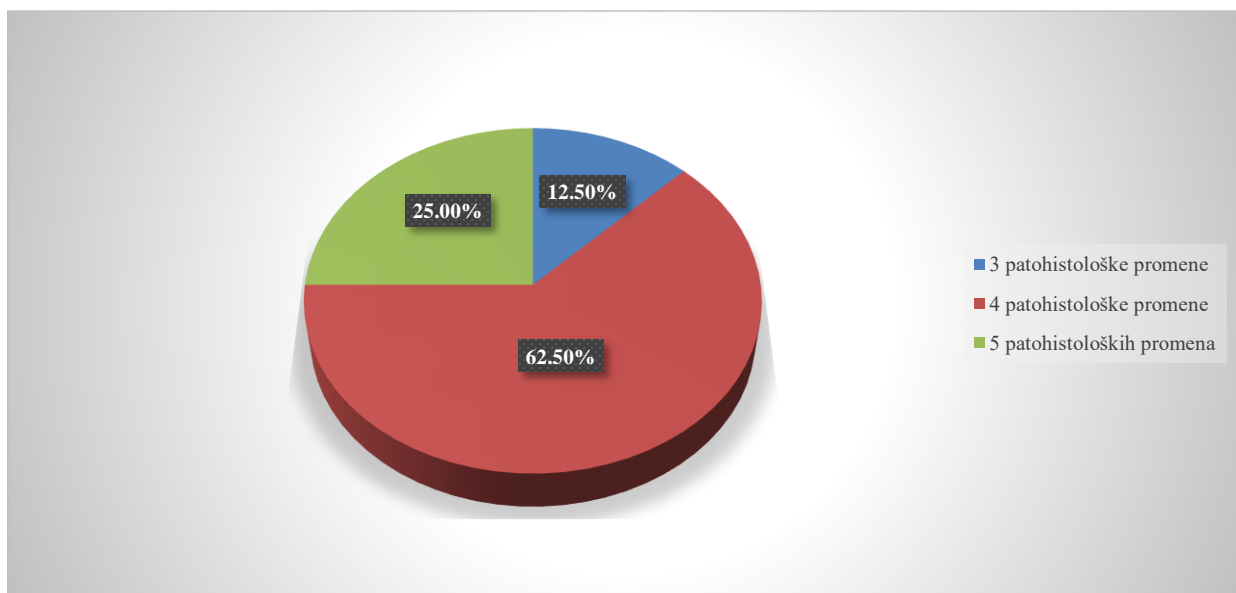
Grafikon 25. Vrste i procentualna zastupljenost patohistoloških promena u bubrežima pacova u kontrolnoj grupi u sredini sa temperaturom 22°C žrtvovanih posle 24 sata



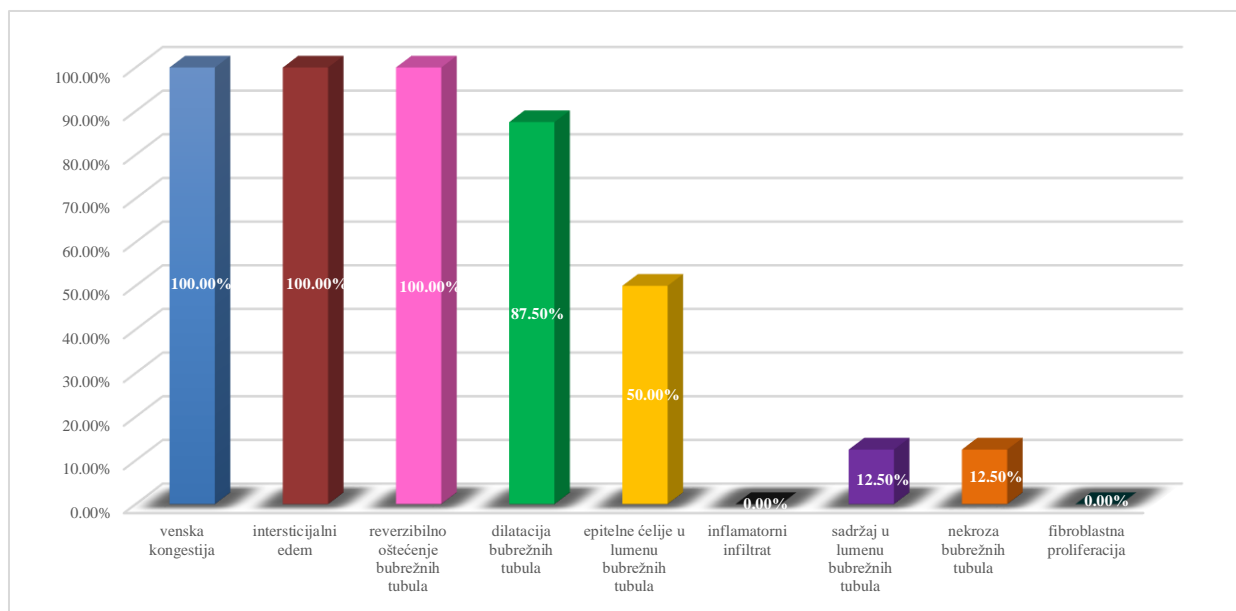
Grafikon 26. Broj različitih patohistoloških promena i procentualna zastupljenost pacova sa tim promenama u kontrolnoj grupi u sredini sa temperaturom 22°C žrtvovanih posle 24 sata



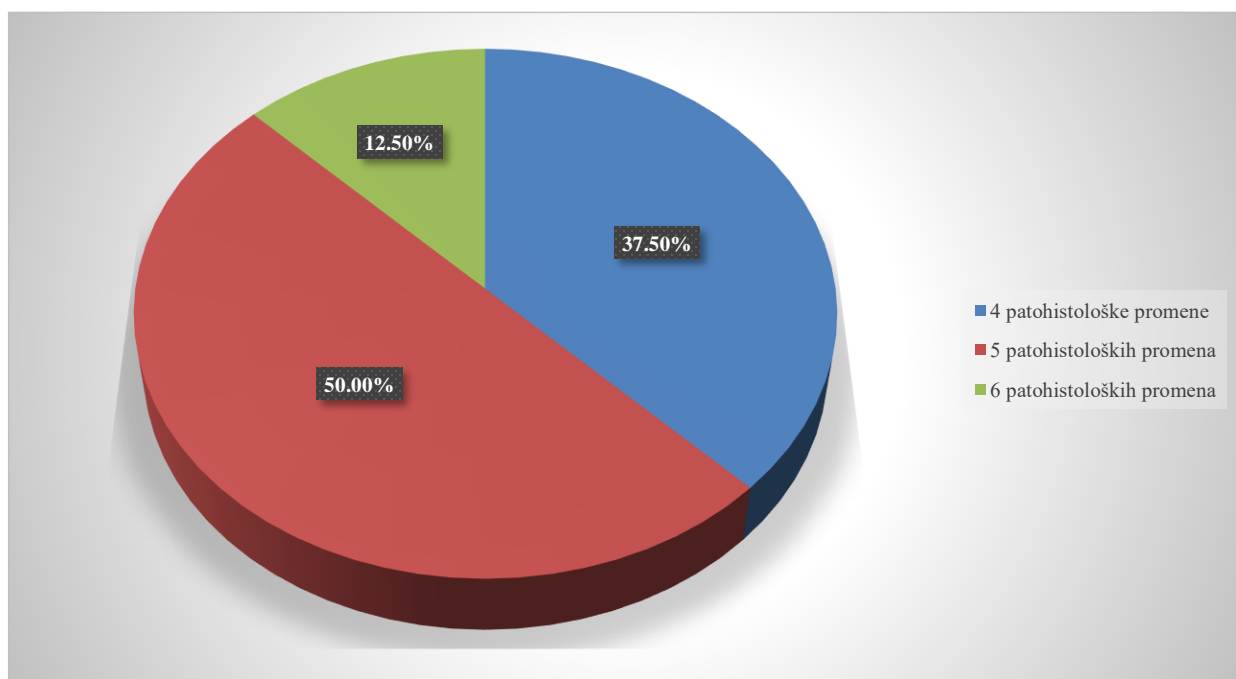
Grafikon 27. Vrste i procentualna zastupljenost patohistoloških promena u bubrežima pacova u eksperimentalnoj grupi (20 mg/kg MDMA) u sredini sa temperaturom 22°C žrtvovanih posle 24 sata



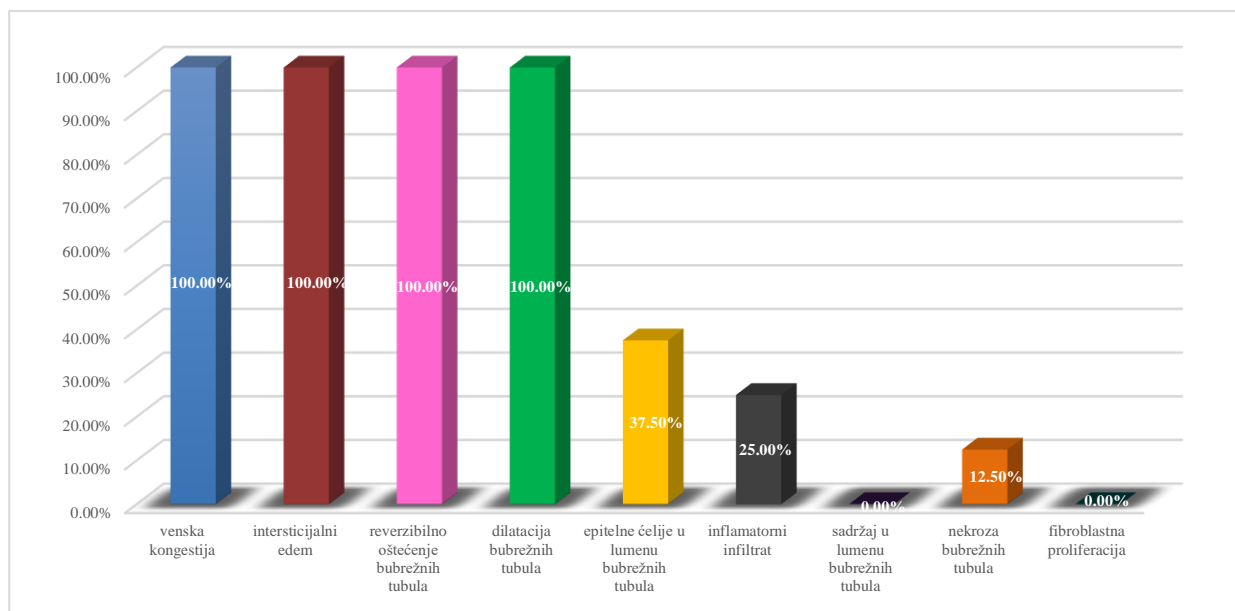
Grafikon 28. Broj različitih patohistoloških promena i procentualna zastupljenost pacova sa tim promenama u eksperimentalnoj grupi (20 mg/kg MDMA) u sredini sa temperaturom 22°C žrtvovanih posle 24 sata



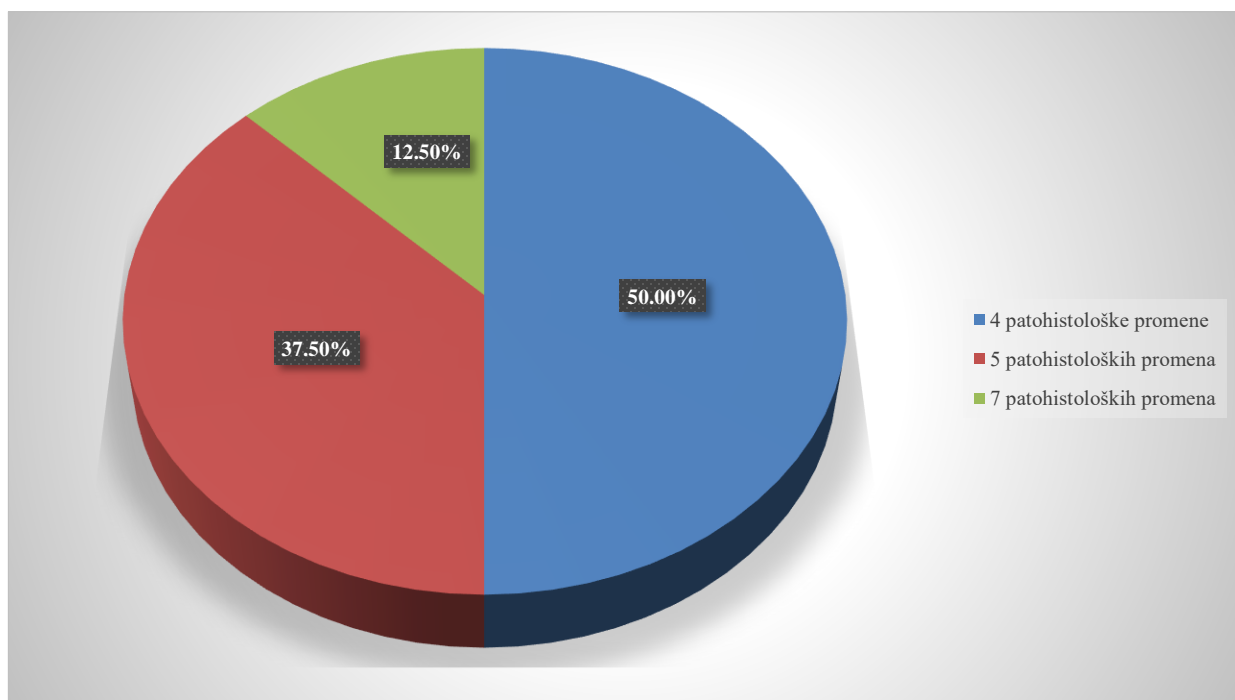
Grafikon 29. Vrste i procentualna zastupljenost patohistoloških promena u bubrežima pacova u eksperimentalnoj grupi (40 mg/kg MDMA) u sredini sa temperaturom 22°C žrtvovanih posle 24 sata



Grafikon 30. Broj različitih patohistoloških promena i procentualna zastupljenost pacova sa tim promenama u eksperimentalnoj grupi (40 mg/kg MDMA) u sredini sa temperaturom 22°C žrtvovanih posle 24 sata

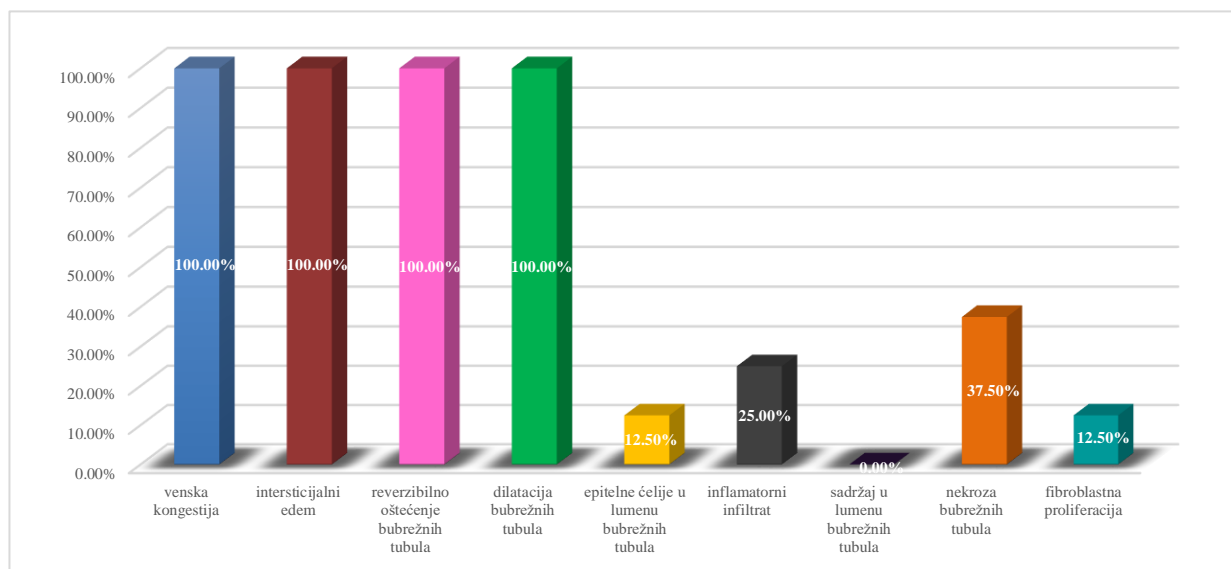


Grafikon 31. Vrste i procentualna zastupljenost patohistoloških promena u bubrežima pacova u kontrolnoj grupi u sredini sa temperaturom 32°C žrtvovanih posle 24 sata

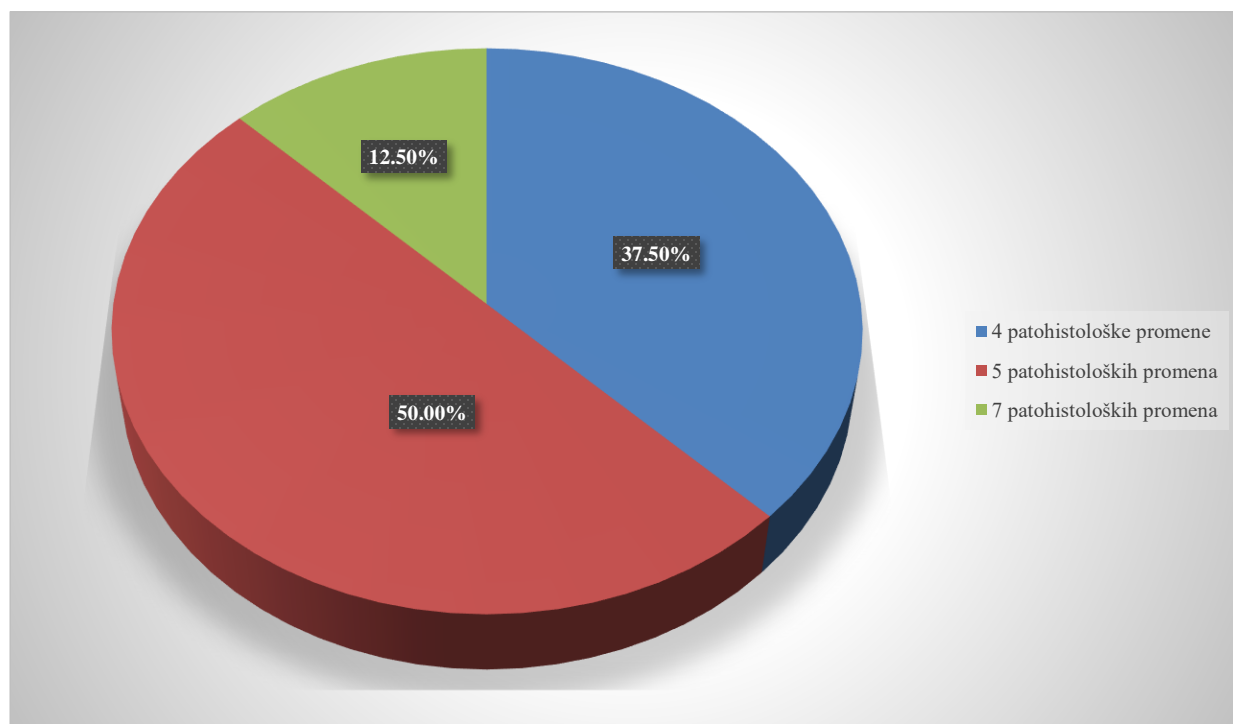


Grafikon 32. Broj različitih patohistoloških promena i procentualna zastupljenost pacova sa tim promenama u kontrolnoj grupi u sredini sa temperaturom 32°C žrtvovanih posle 24 sata

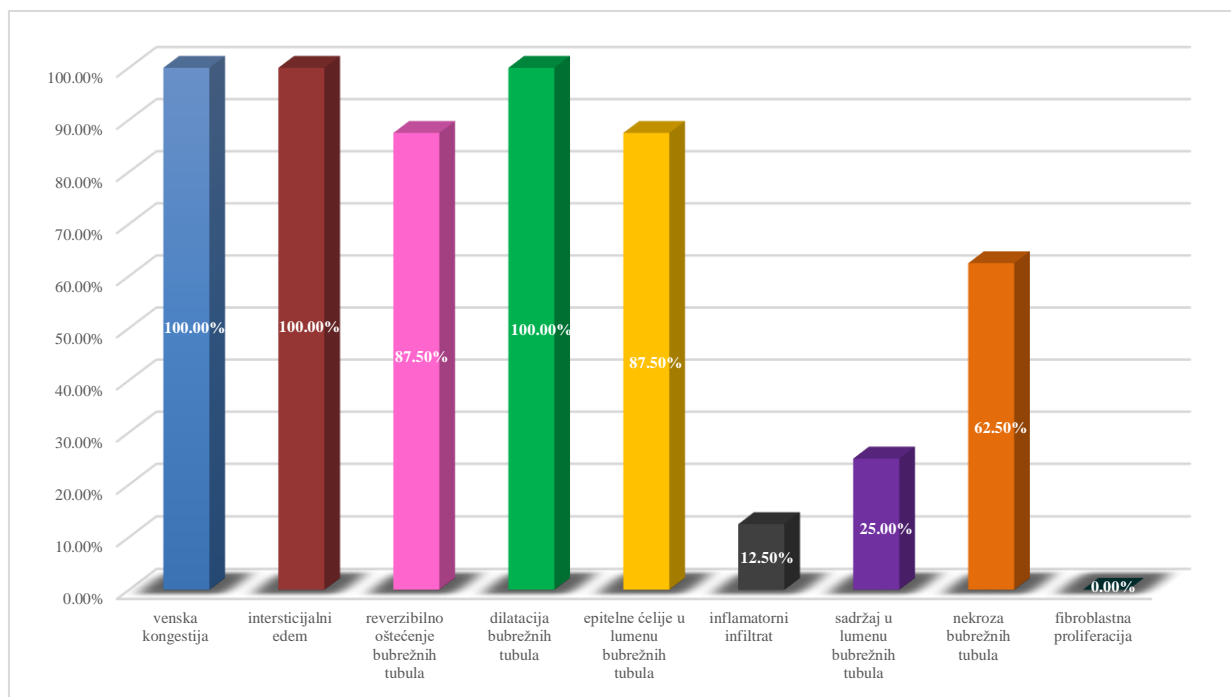




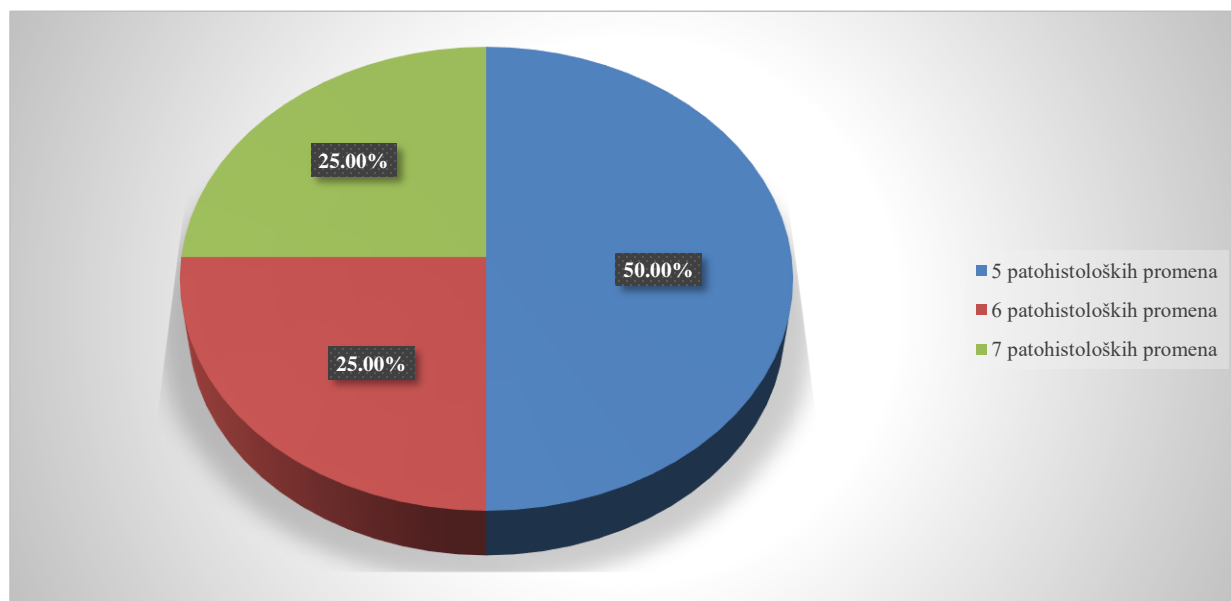
Grafikon 33. Vrste i procentualna zastupljenost patohistoloških promena u bubrežima pacova u eksperimentalnoj grupi (20 mg/kg MDMA) u sredini sa temperaturom 32°C žrtvovanih posle 24 sata



Grafikon 34. Broj različitih patohistoloških promena i procentualna zastupljenost pacova sa tim promenama eksperimentalnoj grupi (20 mg/kg MDMA) u sredini sa temperaturom 32°C žrtvovanih posle 24 sata



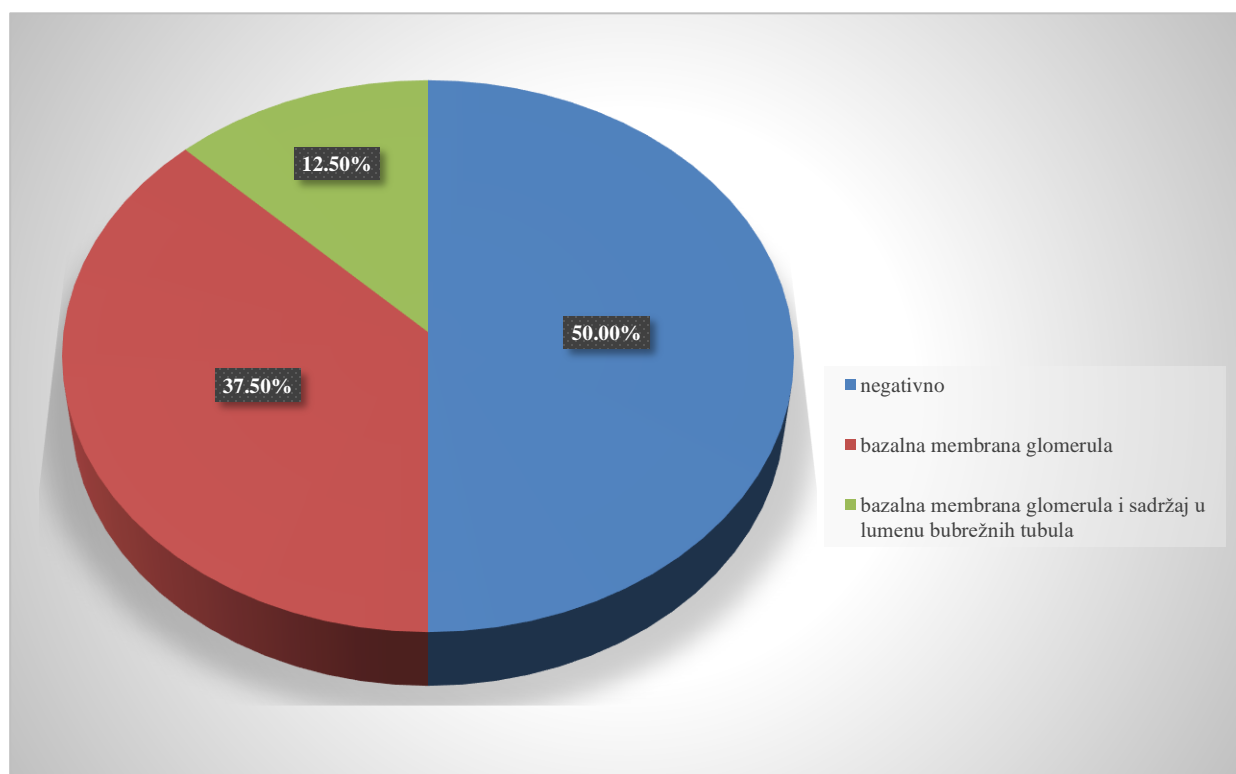
Grafikon 35. Vrste i procentualna zastupljenost patohistoloških promena u bubrežima pacova u eksperimentalnoj grupi (40 mg/kg MDMA) u sredini sa temperaturom 32°C žrtvovanih posle 24 sata



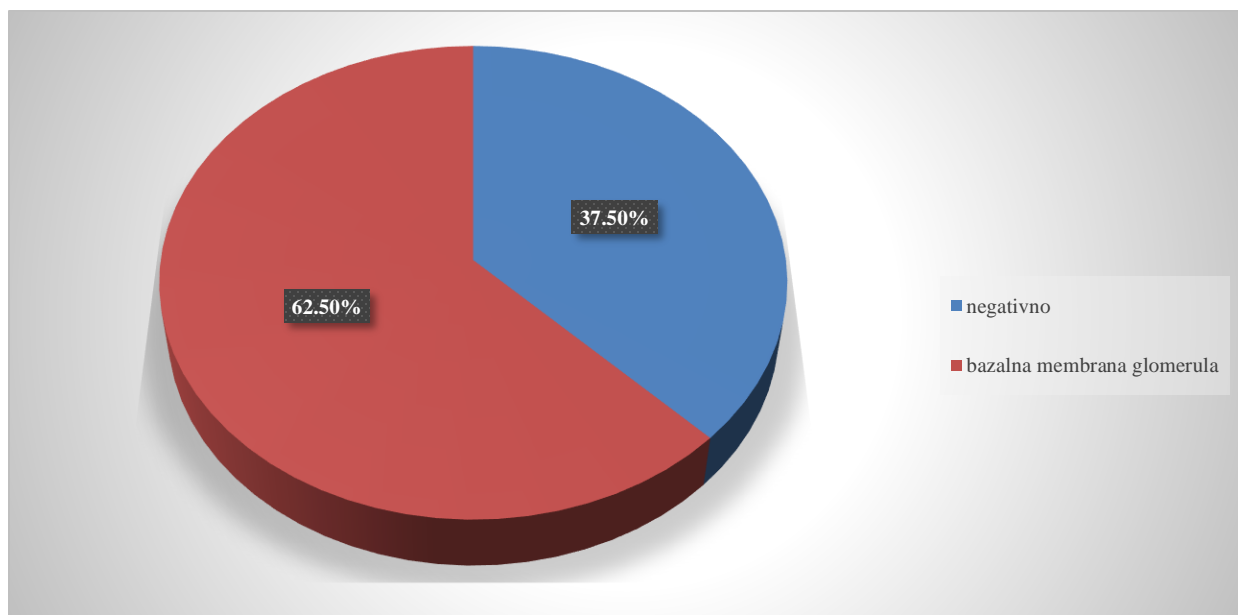
Grafikon 36. Broj različitih patohistoloških promena i procentualna zastupljenost pacova sa tim promenama u eksperimentalnoj grupi (40 mg/kg MDMA) u sredini sa temperaturom 32°C žrtvovanih posle 24 sata

### 5.3. PERIODIC ACID SCHIFF (PAS) - MC MANUS BOJENJE PATOHIŠTOLOŠKIH UZORAKA TKIVA BUBREGA PACOVA

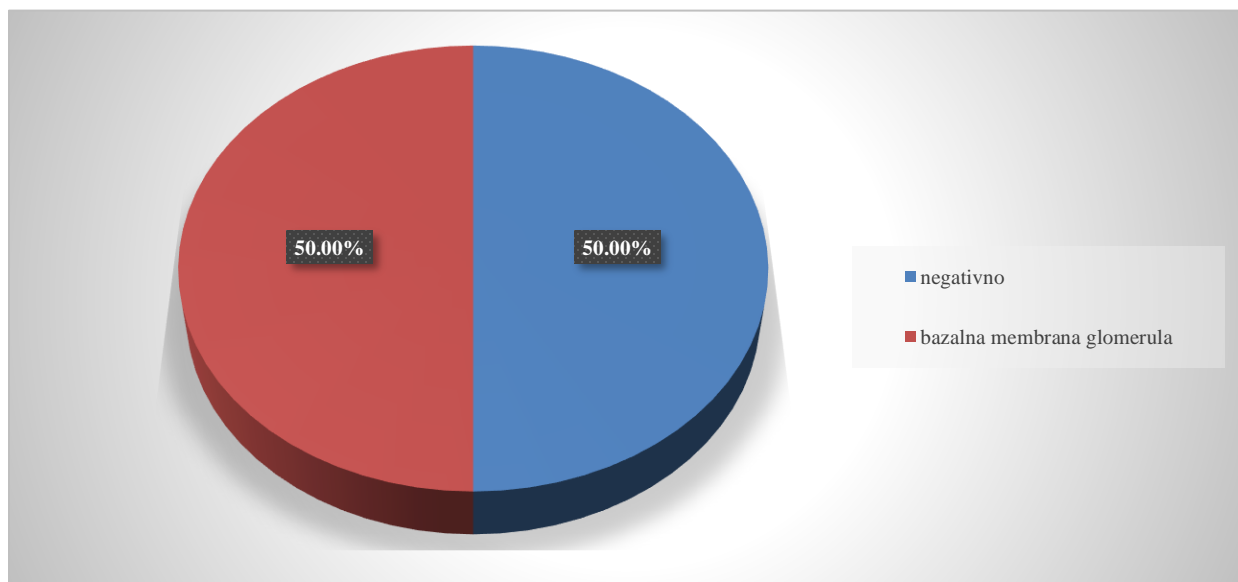
Patohistološki uzorci tkiva bubrega pacova su bojeni specijalnom metodom PAS (Periodic Acid Schiff) - Mc Manus. Pozitivnost na PAS bojenje je bila prisutna kod bazalne membrane glomerula, intersticijuma i sadržaja u lumenu bubrežnih tubula. Rezultati pozitivnosti na PAS bojenje i procenat njihove zastupljenosti kod pacova u svakoj grupi su prikazani grafikonima.



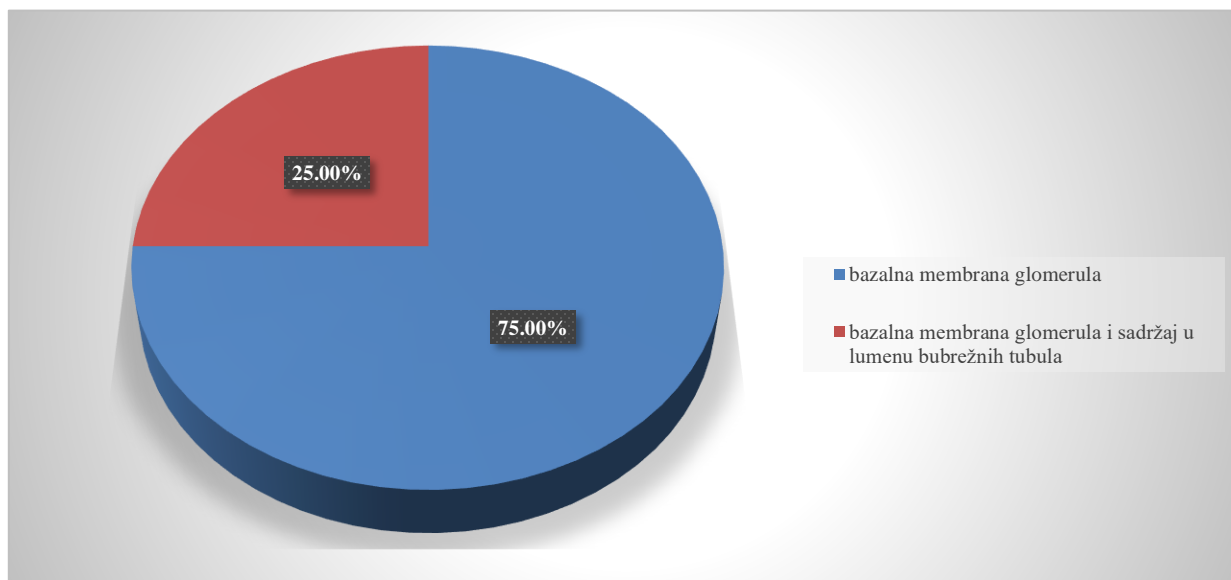
Grafikon 37. PAS bojenje uzoraka tkiva bubrega pacova u kontrolnoj grupi u sredini sa temperaturom 12°C žrtvovanih posle 8 sati



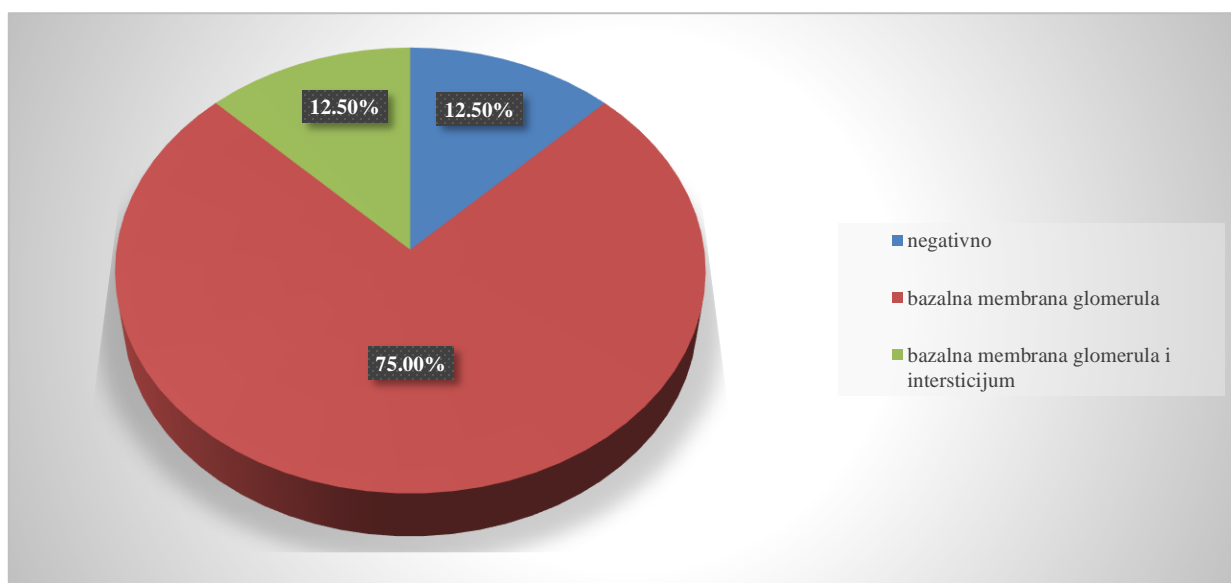
Grafikon 38. PAS bojenje uzoraka tkiva bubrega pacova u eksperimentalnoj grupi (20 mg/kg MDMA) u sredini sa temperaturom 12°C žrtvovanih posle 8 sati



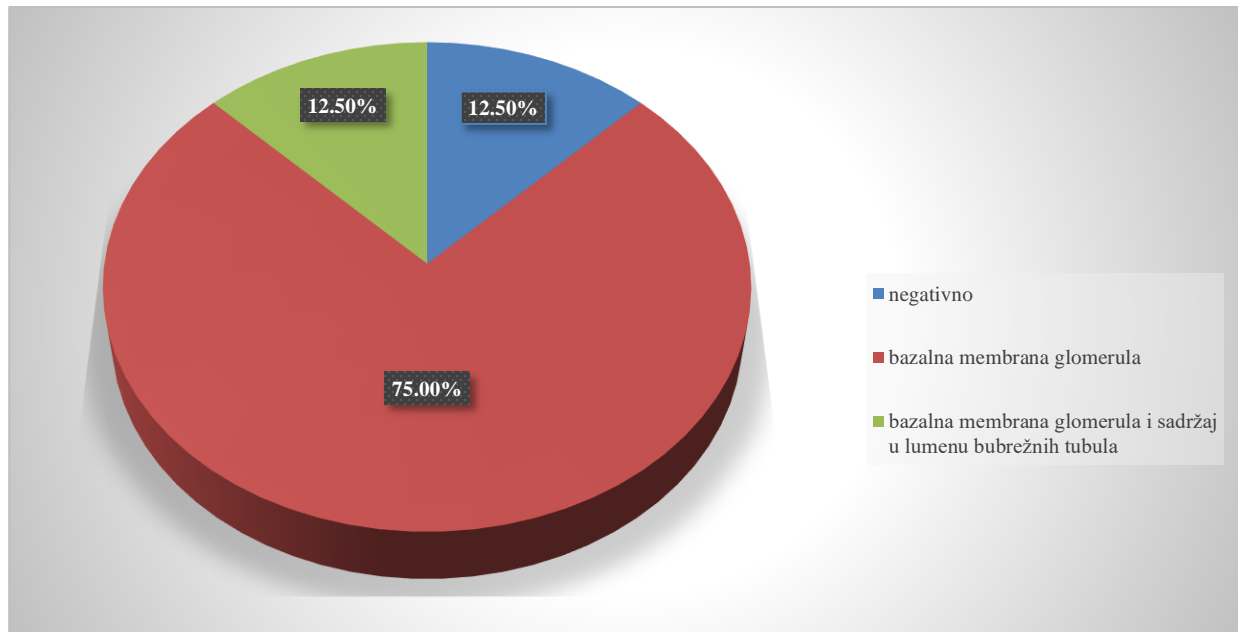
Grafikon 39. PAS bojenje uzoraka tkiva bubrega pacova u eksperimentalnoj grupi (40 mg/kg MDMA) u sredini sa temperaturom 12°C žrtvovanih posle 8 sati



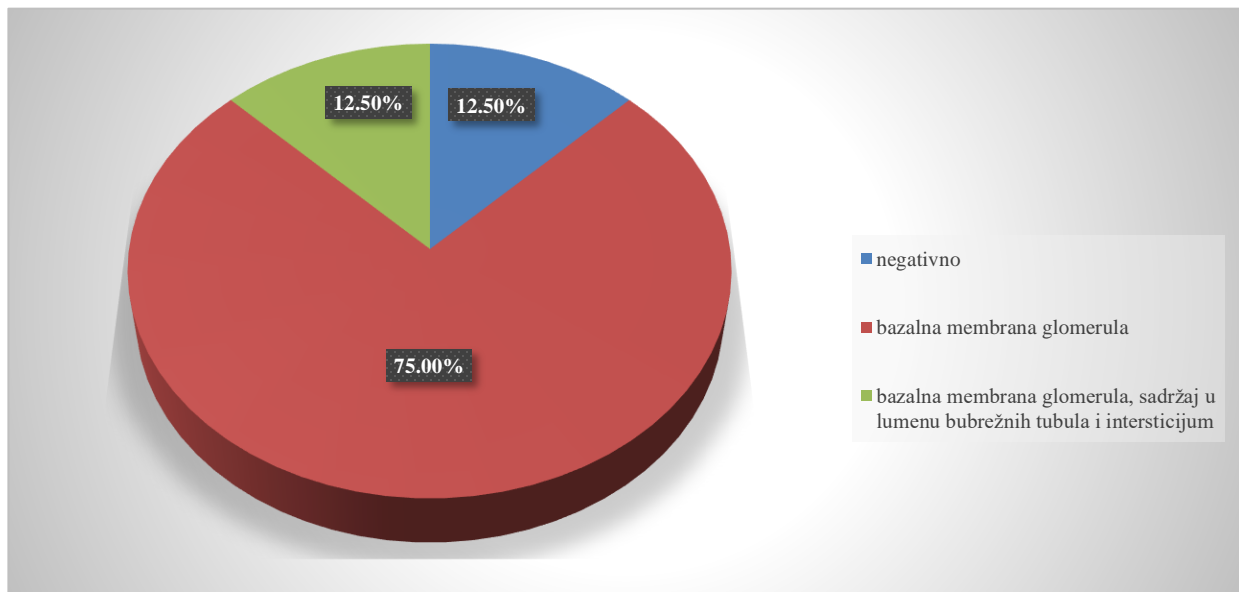
Grafikon 40. PAS bojenje uzoraka tkiva bubrega pacova u kontrolnoj grupi u sredini sa temperaturom 22°C žrtvovanih posle 8 sati



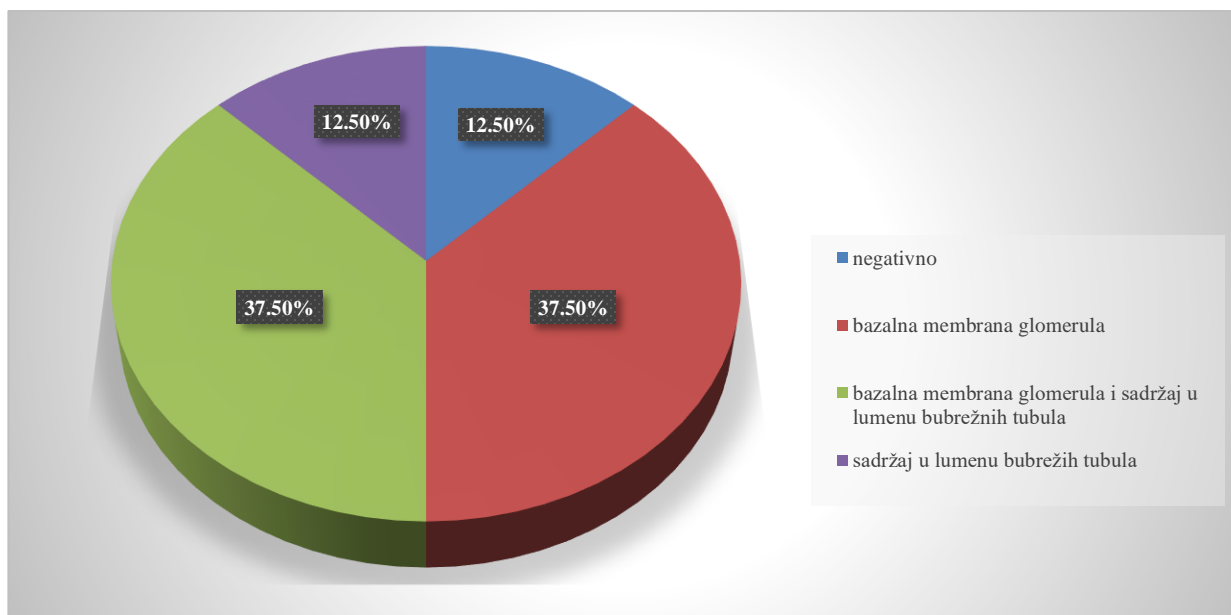
Grafikon 41. PAS bojenje uzoraka tkiva bubrega pacova u eksperimentalnoj grupi (20 mg/kg MDMA) u sredini sa temperaturom 22°C žrtvovanih posle 8 sati



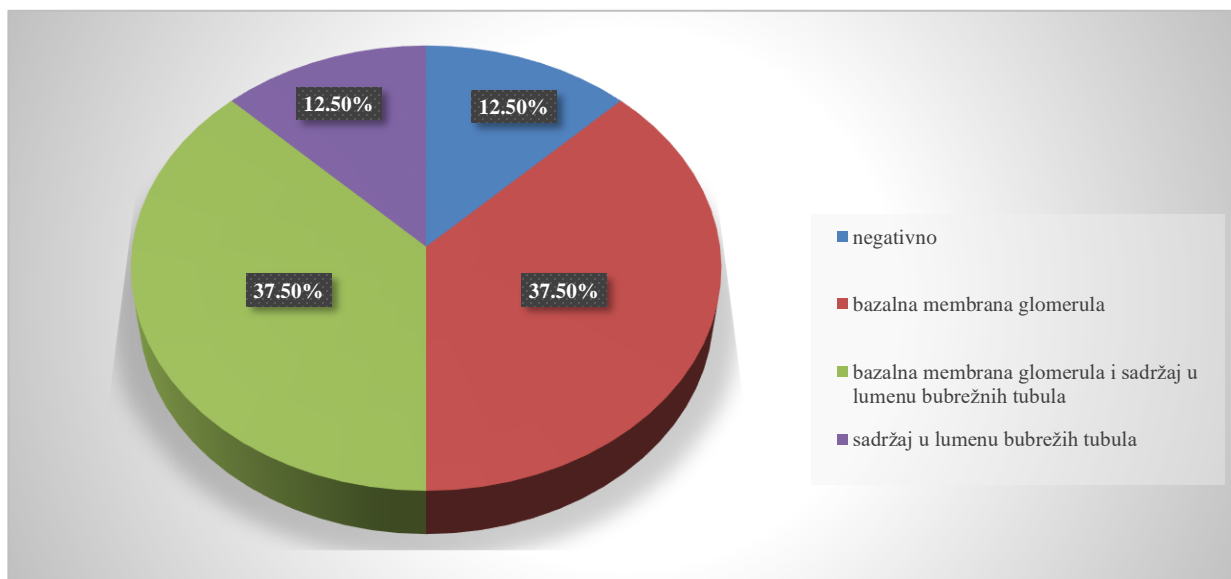
Grafikon 42. PAS bojenje uzoraka tkiva bubrega pacova u eksperimentalnoj grupi (40 mg/kg MDMA) u sredini sa temperaturom 22°C žrtvovanih posle 8 sati



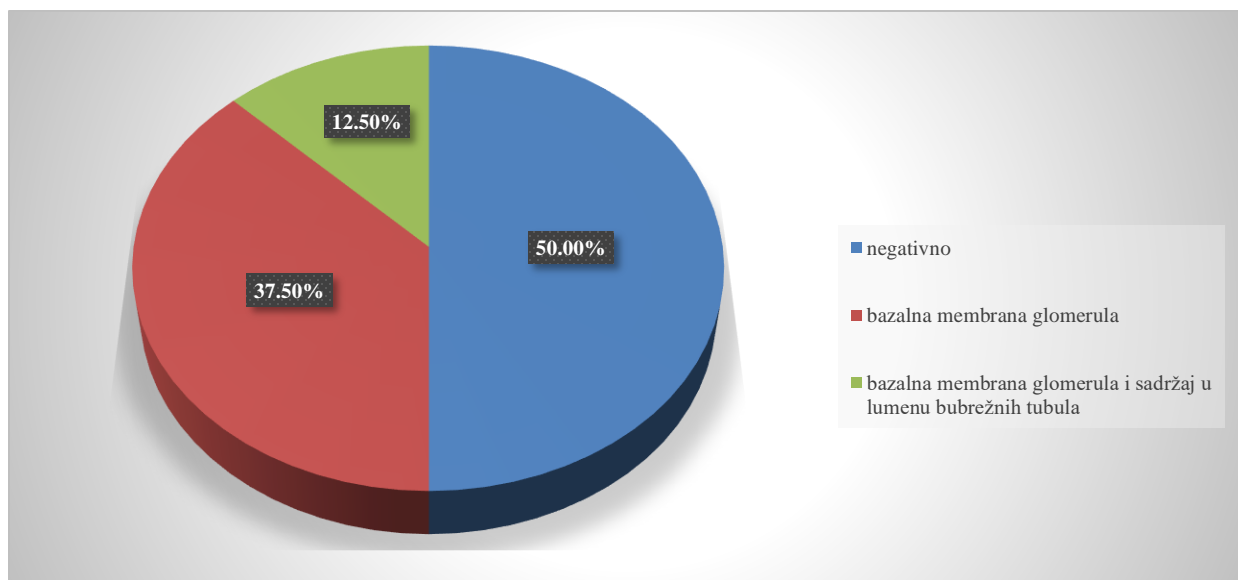
Grafikon 43. PAS bojenje uzoraka tkiva bubrega pacova u kontrolnoj grupi u sredini sa temperaturom 32°C žrtvovanih posle 8 sati



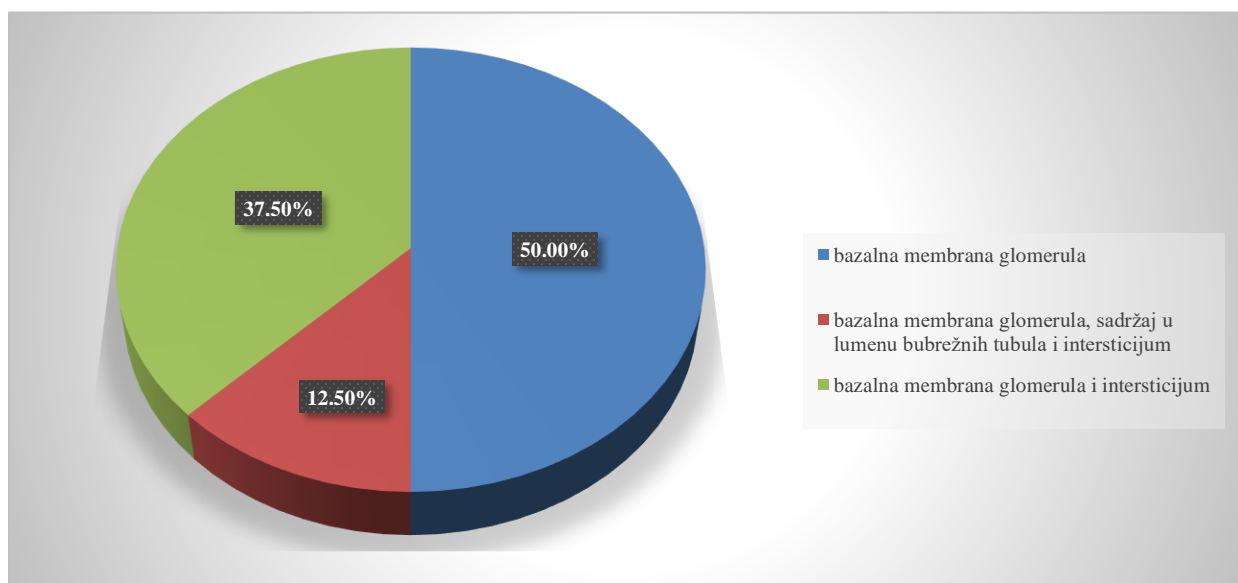
Grafikon 44. PAS bojenje uzoraka tkiva bubrega pacova u eksperimentalnoj grupi (20 mg/kg MDMA) u sredini sa temperaturom 32°C žrtvovanih posle 8 sati



Grafikon 45. PAS bojenje uzoraka tkiva bubrega pacova u eksperimentalnoj grupi (40 mg/kg MDMA) u sredini sa temperaturom 32°C žrtvovanih posle 8 sati

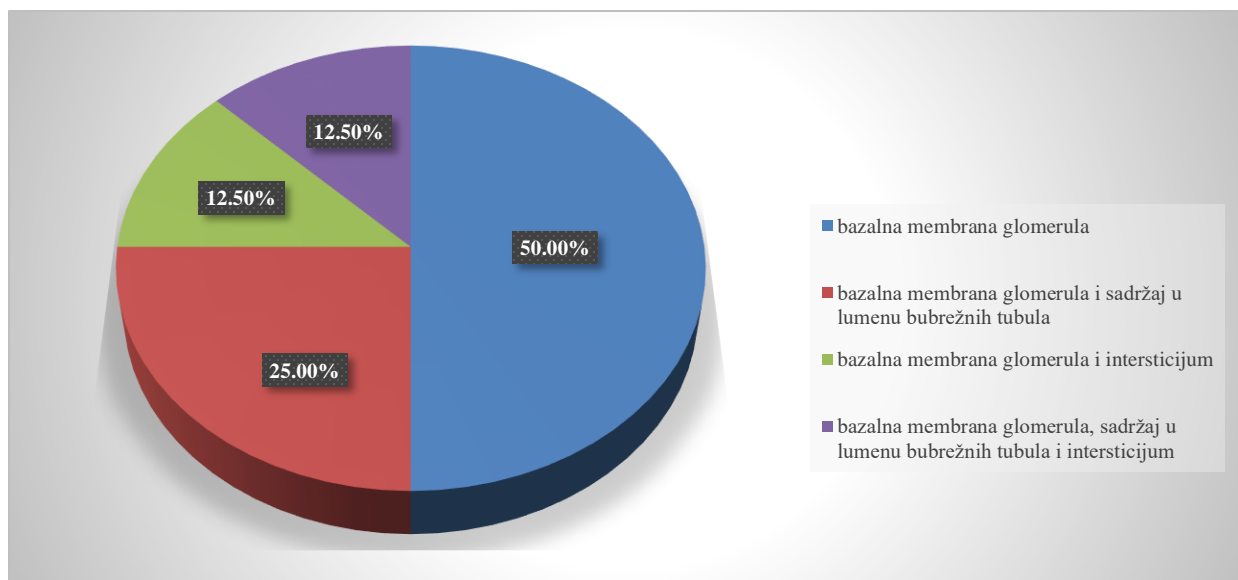


Grafikon 46. PAS bojenje uzoraka tkiva bubrega pacova u kontrolnoj grupi u sredini sa temperaturom 12°C žrtvovanih posle 24 sata

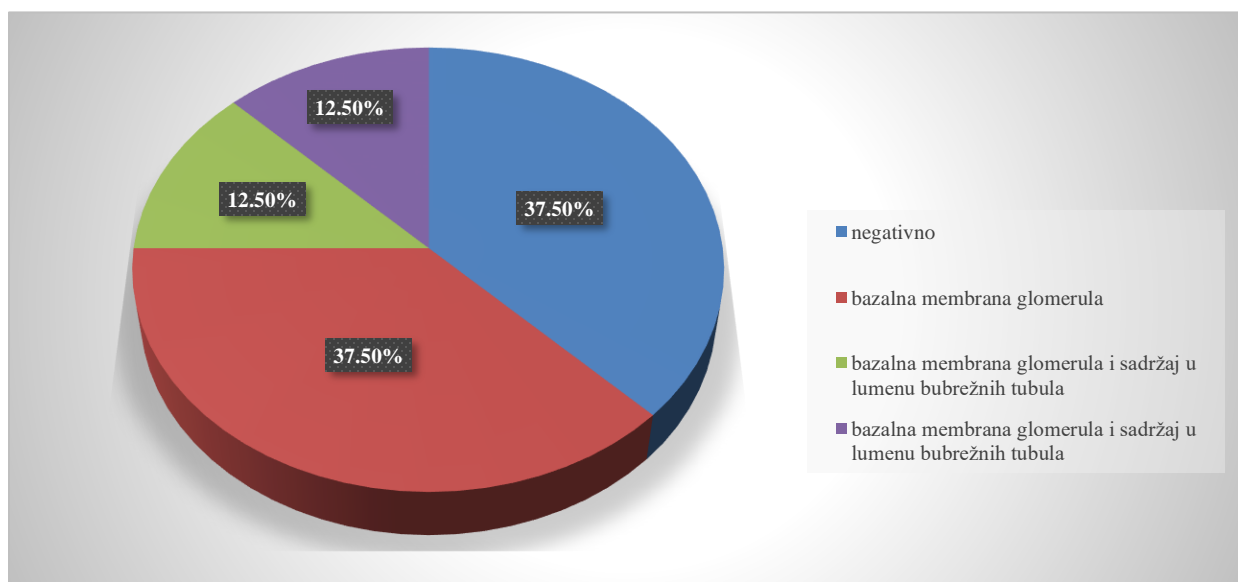


Grafikon 47. PAS bojenje uzoraka tkiva bubrega pacova u eksperimentalnoj grupi (20 mg/kg MDMA) u sredini sa temperaturom 12°C žrtvovanih posle 24 sata

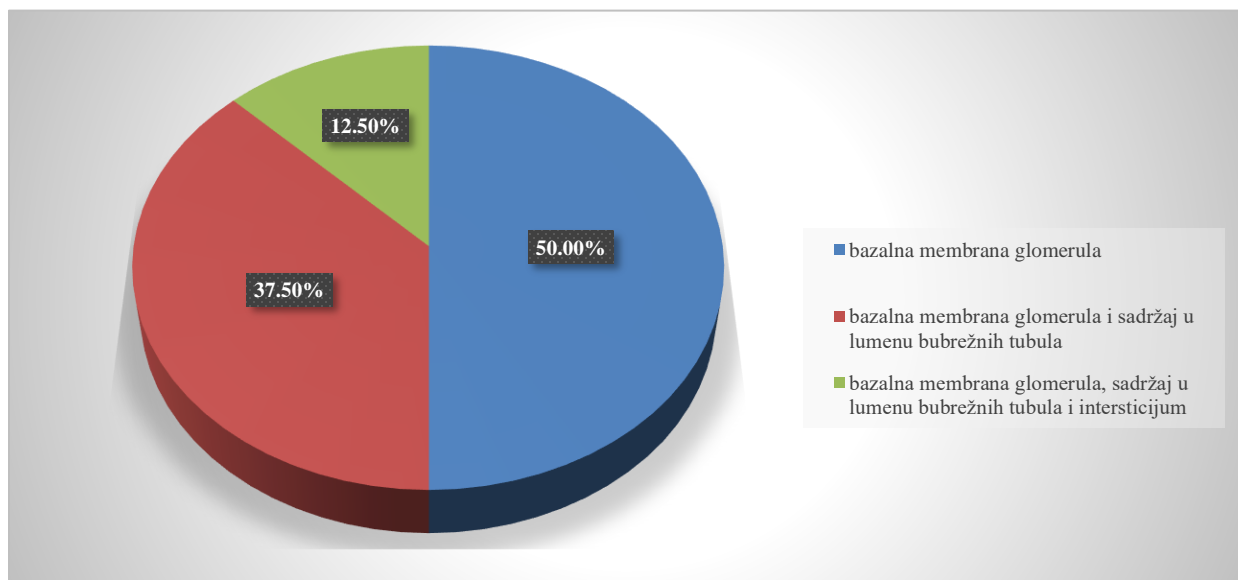




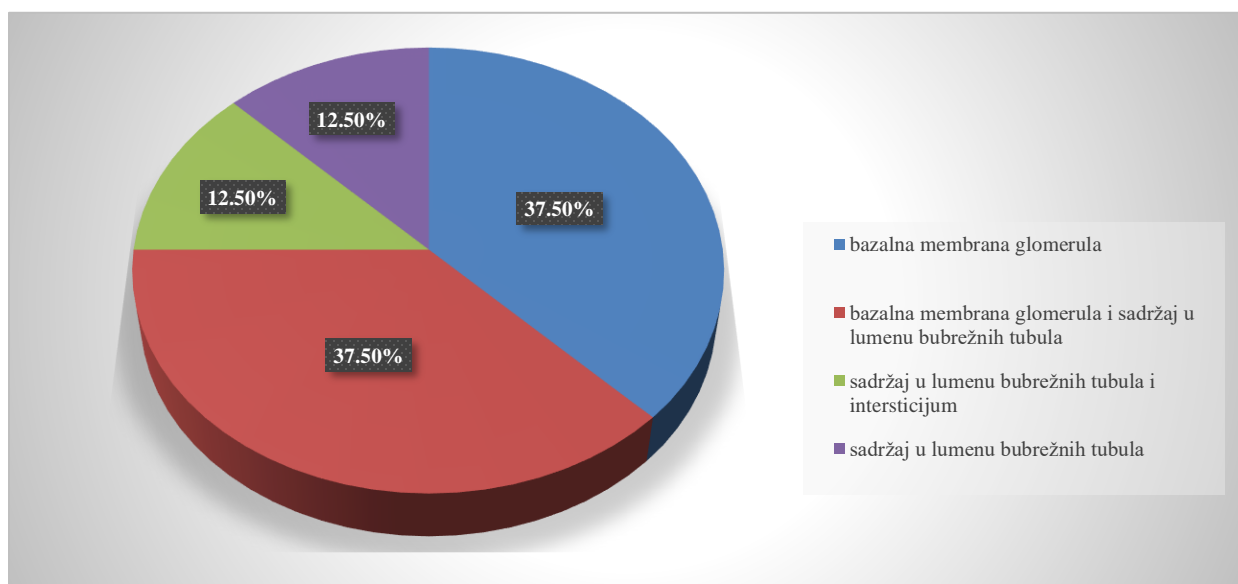
Grafikon 48. PAS bojenje uzoraka tkiva bubrega pacova u eksperimentalnoj grupi (40 mg/kg MDMA) u sredini sa temperaturom 12°C žrtvovanih posle 24 sata



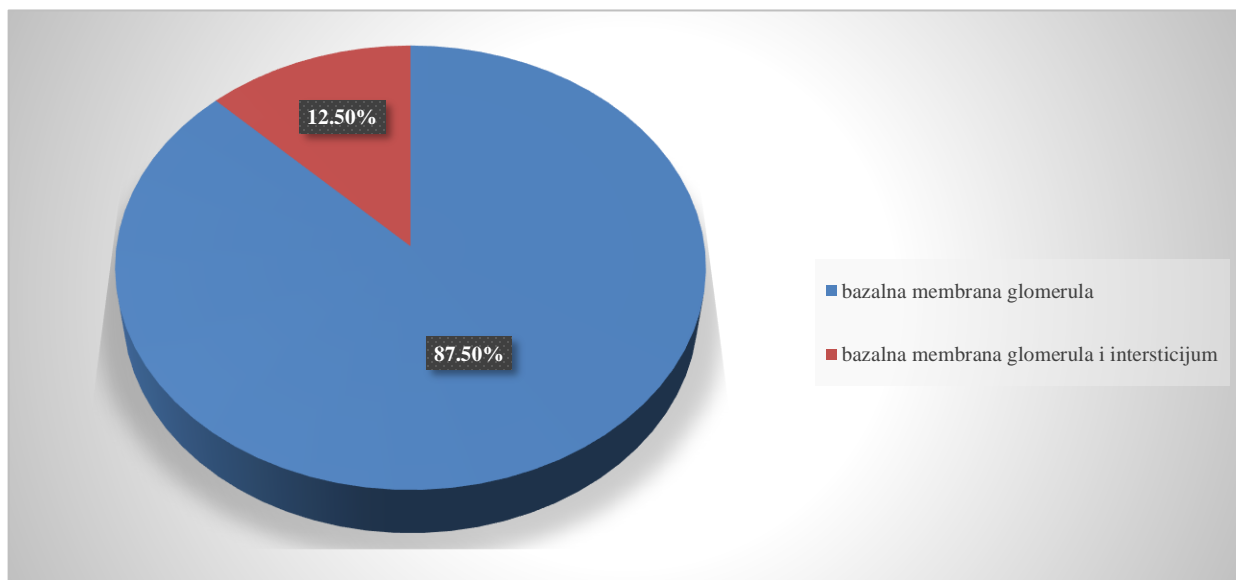
Grafikon 49. PAS bojenje uzoraka tkiva bubrega pacova u kontrolnoj grupi u sredini sa temperaturom 22°C žrtvovanih posle 24 sata



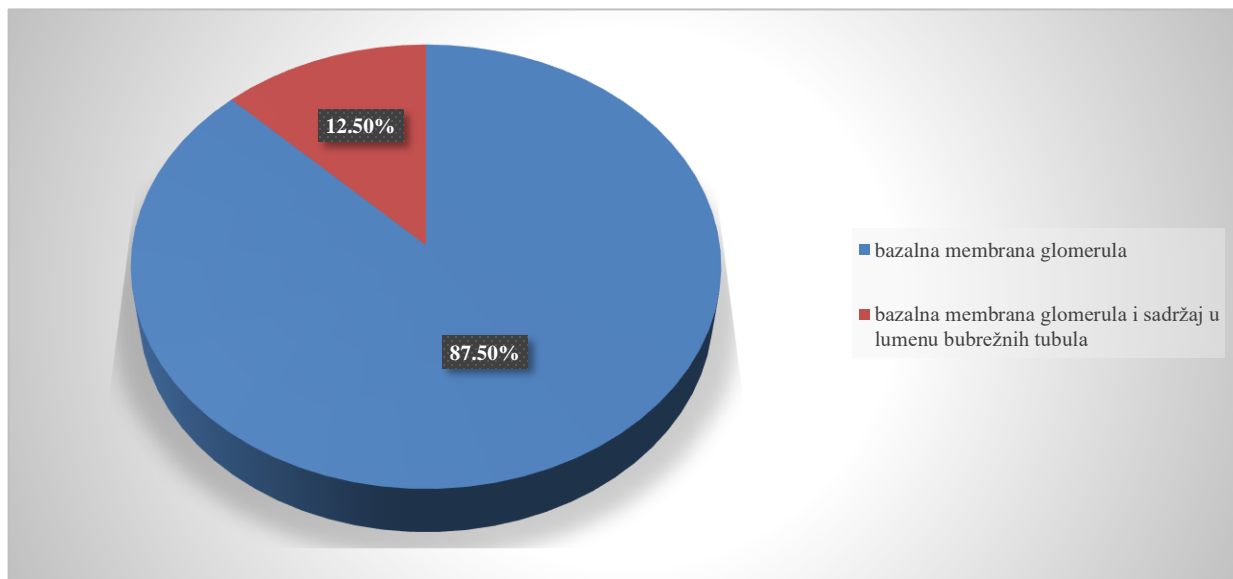
Grafikon 50. PAS bojenje uzoraka tkiva bubrega pacova u eksperimentalnoj grupi (20 mg/kg MDMA) u sredini sa temperaturom 22°C žrtvovanih posle 24 sata



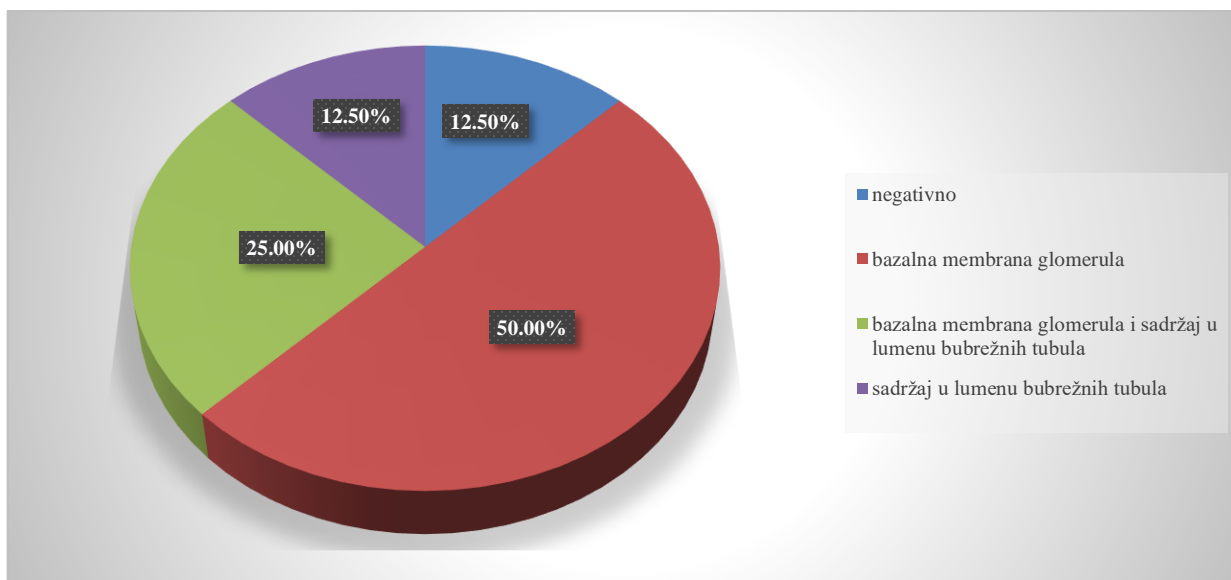
Grafikon 51. PAS bojenje uzoraka tkiva bubrega pacova u eksperimentalnoj grupi (40 mg/kg MDMA) u sredini sa temperaturom 22°C žrtvovanih posle 24 sata



Grafikon 52. PAS bojenje uzoraka tkiva bubrega pacova u kontrolnoj grupi u sredini sa temperaturom 32°C žrtvovanih posle 24 sata



Grafikon 53. PAS bojenje uzoraka tkiva bubrega pacova u eksperimentalnoj grupi (20 mg/kg MDMA) u sredini sa temperaturom 32°C žrtvovanih posle 24 sata



Grafikon 54. PAS bojenje uzoraka tkiva bubrega pacova u eksperimentalnoj grupi (40 mg/kg MDMA) u sredini sa temperaturom 32°C žrtvovanih posle 24 sata

#### 5.4. MORFOMETRIJSKA ANALIZA PATOHISTOLOŠKIH PROMENA U BUBREZIMA PACOVA

Kvantitativna analiza patohistoloških promena (intersticijalni edem, epitelne ćelije u lumenu bubrežnih tubula i nekroza bubrežnih tubula) u bubrezima pacova, kod kojih su ove promene bile prisutne je rađena morfometrijskom analizom.

##### 5.4.1. Morfometrijska analiza intersticijalnog edema u bubrezima pacova

Površine intersticijalnog edema u bubrezima pacova su kvantitativno analizirane morfometrijskim merenjem i izražene procentom (%) koji zahvata intersticijalni edem od ukupne površine vidnog polja. Dobijeni rezultati su predstavljeni deskriptivnom statistikom (minimalna i maksimalna vrednost, aritmetička sredina -  $\bar{X}$  i standardna devijacija - SD) u tabelama 8 i 9. Za analizu odnosa između parametara je korišćen neparametrijski Studentov t-test nezavisnih uzoraka.

Tabela 8. Morfometrijska analiza površina intersticijalnog edema (%) u bubrežima pacova žrtvovanih posle 8 sati

8 sati		Kontrolna grupa	Eksperimentalne grupe	
			20 mg/kg MDMA	40 mg/kg MDMA
12°C	Min	0	4,03	16,82
	Max	0	29,59	47,30
	$\bar{X} \pm SD$	0	13,35 $\pm$ 6,14	27,24 $\pm$ 7,16
22°C	Min	15,06	20,75	16,85
	Max	32,02	83,75	56,58
	$\bar{X} \pm SD$	24,25 $\pm$ 4,79	36,52 $\pm$ 10,63	36,76 $\pm$ 11,25
32°C	Min	11,80	33,12	15,86
	Max	40,56	41,74	47,02
	$\bar{X} \pm SD$	27,39 $\pm$ 7,24	36,02 $\pm$ 3,57	29,70 $\pm$ 13,37

**Morfometrijska analiza intersticijalnog edema u bubrežima pacova u sredini sa temperaturom 12°C žrtvovanih posle 8 sati**

Kod pacova u kontrolnoj grupi nije bio prisutan intersticijalni edem u bubrežima.

Morfometrijski analizirane površine intersticijalnog edema u bubrežima pacova u eksperimentalnim grupama (20 mg/kg i 40 mg/kg MDMA) su bile statistički značajno veće ( $p < 0,00001$ ) u odnosu na kontrolnu grupu. Statistički značajno veće ( $p < 0,00001$ ) su bile morfometrijski analizirane površine intersticijalnog edema u bubrežima pacova u eksperimentalnoj grupi (40 mg/kg MDMA) u odnosu na eksperimentalnu grupu (20 mg/kg MDMA).

**Morfometrijska analiza intersticijalnog edema u bubrežima pacova u sredini sa temperaturom 22°C žrtvovanih posle 8 sati**

Morfometrijski analizirane površine intersticijalnog edema u bubrežima pacova u kontrolnoj grupi su bile statistički značajno manje u odnosu na eksperimentalne grupe (20 mg/kg MDMA i 40 mg/kg MDMA) ( $p < 0,00001$ ), a između eksperimentalnih grupa (20 mg/kg i 40 mg/kg MDMA) nije postojala statistički značajna razlika ( $p = 0,47$ ).

**Morfometrijska analiza intersticijalnog edema u bubrežima pacova u sredini sa temperaturom 32°C žrtvovanih posle 8 sati**

Morfometrijski analizirane površine intersticijalnog edema u bubrežima pacova u eksperimentalnim grupama (20 mg/kg i 40 mg/kg MDMA) su bile statistički značajno veće u odnosu na kontrolnu grupu ( $p < 0,007$ ), a između eksperimentalnih grupa (20 mg/kg i 40 mg/kg MDMA) nije postojala statistički značajna razlika ( $p = 0,169$ ).

Tabela 9. Morfometrijska analiza površina intersticijalnog edema (%) u bubrezima pacova žrtvovanih posle 24 sata

24 sata		Kontrolna grupa	Eksperimentalne grupe	
			20 mg/kg MDMA	40 mg/kg MDMA
12°C	Min	18,97	25,34	19,51
	Max	59,98	60,51	62,67
	$\bar{X} \pm SD$	35,81 $\pm$ 12,92	39,60 $\pm$ 9,08	44,28 $\pm$ 9,97
22°C	Min	29,88	42,51	36,83
	Max	57,82	66,57	72,27
	$\bar{X} \pm SD$	45,49 $\pm$ 7,76	51,84 $\pm$ 6,73	52,94 $\pm$ 7,45
32°C	Min	30,57	40,32	41,18
	Max	65,35	4,88	78,08
	$\bar{X} \pm SD$	43,85 $\pm$ 7,52	56,99 $\pm$ 6,73	58,76 $\pm$ 8,69

**Morfometrijska analiza intersticijalnog edema u bubrezima pacova u sredini sa temperaturom 12°C žrtvovanih posle 24 sata**

Morfometrijski analizirane površine intersticijalnog edema u bubrezima pacova u eksperimentalnoj grupi (40 mg/kg MDMA) su bile statistički značajno veće u odnosu na eksperimentalnu grupu (20 mg/kg MDMA) ( $p < 0,019$ ), a između kontrolne grupe i eksperimentalnih grupa (20 mg/kg i 40 mg/kg MDMA) nije postojala statistički značajna razlika ( $p < 0,12$ ).

**Morfometrijska analiza intersticijalnog edema u bubrezima pacova u sredini sa temperaturom 22°C žrtvovanih posle 24 sata**

Morfometrijski analizirane površine intersticijalnog edema u bubrezima pacova u eksperimentalnim grupama (20 mg/kg i 40 mg/kg MDMA) su bile statistički značajno veće u odnosu na kontrolnu grupu ( $p < 0,002$ ), a između eksperimentalnih grupa (20 mg/kg i 40 mg/kg MDMA) nije postojala statistički značajna razlika ( $p = 0,264$ ).

**Morfometrijska analiza intersticijalnog edema u bubrezima pacova u sredini sa temperaturom 32°C žrtvovanih posle 24 sata**

Morfometrijski analizirane površine intersticijalnog edema u bubrezima pacova u eksperimentalnim grupama (20 mg/kg i 40 mg/kg MDMA) su bile statistički značajno veće u odnosu na kontrolnu grupu ( $p < 0,0001$ ), a između eksperimentalnih grupa (20 mg/kg i 40 mg/kg MDMA) nije postojala statistički značajna razlika ( $p = 0,158$ ).

#### 5.4.2. Morfometrijska analiza epitelnih ćelija u lumenu bubrežnih tubula pacova

Površine koje zahvataju epitelne ćelije u lumenu bubrežnih tubula pacova su kvantitativno analizirane morfometrijskim merenjem i izražene u  $\text{pix}^2$ . Dobijeni rezultati su predstavljeni deskriptivnom statistikom (minimalna i maksimalna vrednost, aritmetička sredina -  $\bar{X}$  i standardna devijacija - SD) u tabelama 10 i 11. Za analizu odnosa između parametara je korišćen neparametrijski Studentov t-test nezavisnih uzoraka.

Tabela 10. Morfometrijska analiza površina koju zahvataju epitelne ćelije ( $\text{pix}^2$ ) u lumenu bubrežnih tubula pacova žrtvovanih posle 8 sati

8 sati		Kontrolna grupa	Eksperimentalne grupe	
			20 mg/kg MDMA	40 mg/kg MDMA
12°C	Min	0	0	0
	Max	0	0	0
	$\bar{X} \pm \text{SD}$	0	0	0
22°C	Min	0	2412	5654
	Max	0	0	42375
	$\bar{X} \pm \text{SD}$	0	0	16993,86 $\pm$ 13179,57
32°C	Min	4270	17209	21969
	Max	18411	51138	76500
	$\bar{X} \pm \text{SD}$	11422,33 $\pm$ 7072,7	31089,33 $\pm$ 17785,68	44379,25 $\pm$ 23417,15

#### Morfometrijska analiza epitelnih ćelija u lumenu bubrežnih tubula pacova u sredini sa temperaturom 12°C žrtvovanih posle 8 sati

Kod pacova u kontrolnoj grupi i eksperimentalnim grupama (20 mg/kg i 40 mg/kg MDMA) nisu bile prisutne epitelne ćelije u lumenu bubrežnih tubula.

#### Morfometrijska analiza epitelnih ćelija u lumenu bubrežnih tubula pacova u sredini sa temperaturom 22°C žrtvovanih posle 8 sati

Kod pacova u kontrolnoj grupi nisu bile prisutne epitelne ćelije u lumenu bubrežnih tubula.

U eksperimentalnoj grupi (20 mg/kg MDMA) kod jednog pacova su bile prisutne epitelne ćelije u lumenu bubrežnih tubula koje su zahvatale površinu od 2412  $\text{pix}^2$ .

#### Morfometrijska analiza epitelnih ćelija u lumenu bubrežnih tubula pacova u sredini sa temperaturom 32°C žrtvovanih posle 8 sati

Morfometrijski analizirane površine koje zahvataju epitelne ćelije u lumenu bubrežnih tubula pacova u eksperimentalnoj grupi (20 mg/kg MDMA) su bile statistički značajno veće u odnosu na

kontrolnu grupu ( $p=0,075$ ), a između eksperimentalnih grupa (20 mg/kg i 40 mg/kg MDMA) nije postojala statistički značajna razlika ( $p=0,225$ ).

Tabela 11. Morfometrijska analiza površine koju zahvataju epitelne ćelije ( $\text{pix}^2$ ) u lumenu bubrežnih tubula pacova žrtvovanih posle 24 sata

24 sata		Kontrolna grupa	Eksperimentalne grupe	
			20 mg/kg MDMA	40 mg/kg MDMA
12°C	Min	0	14331	18160
	Max	0	26317	46593
	$\bar{X} \pm \text{SD}$	0	18978,50 $\pm$ 5270,82	32376,50 $\pm$ 20105,17
22°C	Min	0	1472	15012
	Max	0	0	79358
	$\bar{X} \pm \text{SD}$	0	0	53357,50 $\pm$ 28040,02
32°C	Min	1382	4719	4113
	Max	4316	0	36540
	$\bar{X} \pm \text{SD}$	1549,45 $\pm$ 139,65	0	17687,86 $\pm$ 11109,30

**Morfometrijska analiza epitelnih ćelija u lumenu bubrežnih tubula pacova u sredini sa temperaturom 12°C žrtvovanih posle 24 sata**

Kod pacova u kontrolnoj grupi nisu bile prisutne epitelne ćelije u lumenu bubrežnih tubula.

Nije postojala statistički značajna razlika u morfometrijski analiziranim površinama koje zahvataju epitelne ćelije u lumenu bubrežnih tubula pacova između eksperimentalnih grupa (20 mg/kg i 40 mg/kg MDMA) ( $p<0,11$ ).

**Morfometrijska analiza epitelnih ćelija u lumenu bubrežnih tubula pacova u sredini sa temperaturom 22°C žrtvovanih posle 24 sata**

Kod pacova u kontrolnoj grupi nisu bile prisutne epitelne ćelije u lumenu bubrežnih tubula.

U eksperimentalnoj grupi (20 mg/kg MDMA) kod jednog pacova su bile prisutne epitelne ćelije u lumenu bubrežnih tubula koje su zahvatale površinu od 1472  $\text{pix}^2$ .

**Morfometrijska analiza epitelnih ćelija u lumenu bubrežnih tubula pacova u sredini sa temperaturom 32°C žrtvovanih posle 24 sata**

U eksperimentalnoj grupi (20 mg/kg MDMA) kod jednog pacova su bile prisutne epitelne ćelije u lumenu bubrežnih tubula koje su zahvatale površinu od 4719  $\text{pix}^2$ .



Morfometrijski analizirane površine koje zahvataju epitelne ćelije u lumenu bubrežnih tubula pacova u eksperimentalnoj grupi (40 mg/kg MDMA) su bile statistički značajno veće u odnosu na kontrolnu grupu ( $p=0,049$ ).

### 5.4.3. Morfometrijska analiza nekroze bubrežnih tubula pacova

Površine nekroze bubrežnih tubula su kvantitativno analizirane morfometrijskim merenjem i izražene procentom (%) koji zahvata nekroza bubrežnih tubula od ukupne površine vidnog polja. Dobijeni rezultati su predstavljeni deskriptivnom statistikom (minimalna i maksimalna vrednost, aritmetička sredina -  $\bar{X}$  i standardna devijacija - SD) u tabelama 12 i 13. Za analizu odnosa između parametara je korišćen neparametrijski Studentov t-test nezavisnih uzoraka.

Tabela 12. Morfometrijska analiza površina nekroze bubrežnih tubula (%) pacova žrtvovanih posle 8 sati

8 sati		Kontrolna grupa	Eksperimentalne grupe	
			20 mg/kg MDMA	40 mg/kg MDMA
12°C	Min	0	0	0
	Max	0	0	0
	$\bar{X} \pm SD$	0	0	0
22°C	Min	0	0	35,34
	Max	0	0	52,65
	$\bar{X} \pm SD$	0	0	41,23 $\pm$ 9,89
32°C	Min	14,71	13,60	22,01
	Max	22,32	28,56	44,89
	$\bar{X} \pm SD$	17,98 $\pm$ 3,92	23,57 $\pm$ 6,81	34,50 $\pm$ 9,08

#### Morfometrijska analiza nekroze bubrežnih tubula pacova u sredini sa temperaturom 12°C žrtvovanih posle 8 sati

Kod pacova u kontrolnoj grupi i eksperimentalnim grupama (20 mg/kg i 40 mg/kg MDMA) nije bila prisutna nekroza bubrežnih tubula.

#### Morfometrijska analiza nekroze bubrežnih tubula pacova u sredini sa temperaturom 22°C žrtvovanih posle 8 sati

Kod pacova u kontrolnoj grupu i eksperimentalnoj grupi (20 mg/kg MDMA) nije bila prisutna nekroza bubrežnih tubula.

U eksperimentalnoj grupi (40 mg/kg MDMA) kod tri pacova je bila prisutna nekroza bubrežnih tubula.

### Morfometrijska analiza nekroze bubrežnih tubula pacova u sredini sa temperaturom 32°C žrtvovanih posle 8 sati

Nije postojala statistički značajna razlika kod morfometrijski analiziranih površina nekroze bubrežnih tubula pacova između kontrolne grupe i eksperimentalne grupe (20 mg/kg MDMA) ( $p=0,132$ ).

Morfometrijski analizirane površine nekroze bubrežnih tubula pacova u eksperimentalnoj grupi (40 mg/kg MDMA) su bile statistički značajno veće u odnosu na eksperimentalnu grupu (20 mg/kg MDMA) ( $p=0,037$ ).

Tabela 13. Morfometrijska analiza površina nekroze bubrežnih tubula (%) pacova žrtvovanih posle 24 sata

24 sata		Kontrolna grupa	Eksperimentalne grupe	
			20 mg/kg MDMA	40 mg/kg MDMA
12°C	Min	0	0	0
	Max	0	0	0
	$\bar{X}\pm SD$	0	0	0
22°C	Min	0	0	25,04
	Max	0	0	43,05
	$\bar{X}\pm SD$	0	0	36,34±9,84
32°C	Min	10,57	26,61	29,24
	Max	0	47,55	51,92
	$\bar{X}\pm SD$	0	34,42±11,50	40,46±8,91

### Morfometrijska analiza nekroze bubrežnih tubula pacova u sredini sa temperaturom 12°C žrtvovanih posle 24 sata

Kod pacova u kontrolnoj grupi i eksperimentalnim grupama (20 mg/kg i 40 mg/kg MDMA) nije bila prisutna nekroza bubrežnih tubula.

### Morfometrijska analiza nekroze bubrežnih tubula pacova u sredini sa temperaturom 22°C žrtvovanih posle 24 sata

Kod pacova u kontrolnoj grupi i eksperimentalnoj grupi (20 mg/kg MDMA) nije bila prisutna nekroza bubrežnih tubula.

U eksperimentalnoj grupi (40 mg/kg MDMA) kod dva pacova je bila prisutna nekroza bubrežnih tubula.

### **Morfometrijska analiza nekroze bubrežnih tubula pacova u sredini sa temperaturom 32°C žrtvovanih posle 24 sata**

U kontrolnoj grupi kod jednog pacova je bila prisutna nekroza bubrežnih tubula.

Nije postojala statistički značajna razlika između morfometrijski analiziranih površina nekroze bubrežnih tubula pacova eksperimentalnih grupa (20 mg/kg i 40 mg/kg MDMA) ( $p=0,22$ ).

## **5.5. BIOHEMIJSKI PARAMETRI U KRVI PACOVA**

### **5.5.1. Vrednosti biohemijskih parametara u krvi pacova**

U svim grupama su analizirane vrednosti biohemijskih parametara (glukoza, BUN, osmolalitet, kreatinin, kalcijum, natrijum, kalijum, hlor, AST, CK i LDH) u krvi pacova. Analizirane vrednosti biohemijskih parametara u krvi pacova su predstavljene tabelarno deskriptivnom statistikom (minimalna i maksimalna vrednost, aritmetička sredina -  $\bar{X}$  i standardna devijacija - SD).

Tabela 14. Vrednosti biohemijских parametara u krvi pacova u sredini sa temperaturom 12°C žrtvovanih posle 8 sati

Biohemijski parametri		Kontrolna grupa	Eksperimentalne grupe	
			20 mg/kg MDMA	40 mg/kg MDMA
Glukoza (mmol/L)	Min	8,50	4,00	0,10
	Max	10,20	9,40	7,10
	$\bar{X} \pm SD$	9,26±0,64	7,01±2,13	2,94±2,75
BUN (mmol/L)	Min	7,50	5,50	6,20
	Max	9,50	9,90	15,40
	$\bar{X} \pm SD$	8,34±0,75	7,50±1,40	10,34±3,56
Osmolalitet (Osm/kg)	Min	307,00	294,00	294,00
	Max	321,00	304,00	323,00
	$\bar{X} \pm SD$	315,37±4,75	296,75±3,49	304,38±9,64
Kreatinin ( $\mu$ mol/L)	Min	68,00	63,00	65,00
	Max	76,00	79,00	119,00
	$\bar{X} \pm SD$	72,37±2,67	70,38±5,01	86,00±19,24
Kalcijum (mmol/L)	Min	2,71	2,48	2,31
	Max	3,09	2,74	2,77
	$\bar{X} \pm SD$	2,83±0,12	2,63±0,08	2,56±0,17
Natrijum (mmol/L)	Min	143,00	145,00	147,00
	Max	151,00	150,00	162,00
	$\bar{X} \pm SD$	147,38±2,67	146,88±1,81	151,62±5,26
Kalijum (mmol/L)	Min	3,90	2,80	3,30
	Max	5,60	5,50	9,50
	$\bar{X} \pm SD$	4,79±0,52	4,35±0,82	5,21±1,97
Hlor (mmol/L)	Min	107,00	103,00	108,00
	Max	113,00	111,00	136,00
	$\bar{X} \pm SD$	110,00±2,00	107,63±2,92	115,63±9,12
AST (U/L)	Min	106,00	120,00	157,00
	Max	238,00	298,00	682,00
	$\bar{X} \pm SD$	146,63±40,61	199,50±59,18	382,13±213,69
CK (U/L)	Min	159,00	193,00	575,00
	Max	1114,00	1128,00	2240,00
	$\bar{X} \pm SD$	585,12±333,31	565,63±356,17	1188,13±592,36
LDH (U/L)	Min	74,00	126,00	448,00
	Max	1047,00	962,00	1304,00
	$\bar{X} \pm SD$	447,25±294,61	427,87±290,86	815,13±272,25

Tabela 15. Vrednosti biohemijskih parametara u krvi pacova u sredini sa temperaturom 22°C žrtvovanih posle 8 sati

Biohemijski parametri		Kontrolna Grupa	Eksperimentalne grupe	
			20 mg/kg MDMA	40 mg/kg MDMA
Glukoza (mmol/L)	Min	8,50	4,00	0,10
	Max	10,20	9,40	7,10
	$\bar{X} \pm SD$	9,26±0,64	7,01±2,13	2,94±2,75
BUN (mmol/L)	Min	7,50	5,50	6,20
	Max	9,50	9,90	15,40
	$\bar{X} \pm SD$	8,34±0,75	7,50±1,40	10,34±3,56
Osmolalitet (Osm/kg)	Min	307,00	294,00	294,00
	Max	321,00	304,00	323,00
	$\bar{X} \pm SD$	315,38±4,75	296,75±3,49	304,38±9,64
Kreatinin ( $\mu\text{mol/L}$ )	Min	68,00	63,00	65,00
	Max	76,00	79,00	119,00
	$\bar{X} \pm SD$	72,38±2,67	70,34±5,01	86,00±19,24
Kalcijum (mmol/L)	Min	2,71	2,48	2,31
	Max	3,09	2,74	2,77
	$\bar{X} \pm SD$	2,83±0,12	2,63±0,08	2,56±0,17
Natrijum (mmol/L)	Min	143,00	145,00	147,00
	Max	151,00	150,00	162,00
	$\bar{X} \pm SD$	147,38±2,67	146,88±1,81	151,63±5,26
Kalijum (mmol/L)	Min	3,90	2,80	3,30
	Max	5,60	5,50	9,50
	$\bar{X} \pm SD$	4,79±0,52	4,35±0,82	5,21±1,97
Hlor (mmol/L)	Min	107,00	103,00	108,00
	Max	113,00	111,00	136,00
	$\bar{X} \pm SD$	110,00±2,00	107,63±2,92	115,63±9,12
AST (U/L)	Min	106,00	120,00	157,00
	Max	238,00	298,00	682,00
	$\bar{X} \pm SD$	146,63±40,61	199,50±59,18	382,13±213,67
CK (U/L)	Min	159,00	193,00	575,00
	Max	1114,00	1128,00	2240,00
	$\bar{X} \pm SD$	585,13±332,31	565,63±356,17	1188,13±592,36
LDH (U/L)	Min	74,00	126,00	448,00
	Max	1047,00	962,00	1304,00
	$\bar{X} \pm SD$	447,25±294,61	427,88±290,86	815,13±272,24

Tabela 16. Vrednosti biohemijskih parametara u krvi pacova u sredini sa temperaturom 32°C žrtvovanih posle 8 sati

Biohemijski parametri		Kontrolna grupa	Eksperimentalne grupe	
			20 mg/kg MDMA	40 mg/kg MDMA
Glukoza (mmol/L)	Min	7,90	0,10	0,60
	Max	9,50	2,10	4,80
	$\bar{X} \pm SD$	9,11±0,55	0,75±0,62	2,11±1,33
BUN (mmol/L)	Min	5,60	8,30	11,40
	Max	8,40	16,10	26,30
	$\bar{X} \pm SD$	6,79±0,97	11,05±2,93	17,80±5,32
Osmolalitet (Osm/kg)	Min	291,00	306,00	309,00
	Max	305,00	323,00	339,00
	$\bar{X} \pm SD$	300,63±4,50	314,89±6,15	321,63±9,53
Kreatinin ( $\mu\text{mol/L}$ )	Min	47,00	83,00	69,00
	Max	57,00	163,00	159,00
	$\bar{X} \pm SD$	51,25±3,20	110,63±29,70	113,38±35,37
Kalcijum (mmol/L)	Min	2,56	2,17	2,42
	Max	2,72	2,87	2,89
	$\bar{X} \pm SD$	2,63±0,05	2,59±0,25	2,60±0,19
Natrijum (mmol/L)	Min	143,00	142,00	151,00
	Max	151,00	160,00	170,00
	$\bar{X} \pm SD$	148,25±2,38	148,88±7,18	157,75±6,34
Kalijum (mmol/L)	Min	4,10	5,20	4,30
	Max	5,30	12,00	10,80
	$\bar{X} \pm SD$	4,69±0,42	6,69±2,21	7,08±2,13
Hlor (mmol/L)	Min	108,00	104,00	114,00
	Max	115,00	126,00	130,00
	$\bar{X} \pm SD$	110,50±2,45	117,63±7,39	120,75±5,52
AST (U/L)	Min	109,00	213,00	386,00
	Max	182,00	1194,00	1671,00
	$\bar{X} \pm SD$	132,25±22,10	650,00±344,76	1014,75±496,16
CK (U/L)	Min	358,00	400,00	875,00
	Max	1270,00	3540,00	3230,00
	$\bar{X} \pm SD$	720,75±340,94	1075,50±1058,71	1786,13±874,12
LDH (U/L)	Min	327,00	568,00	885,00
	Max	1094,00	2268,00	2229,00
	$\bar{X} \pm SD$	643,75±282,93	1164,75±512,60	1736,63±471,32

Tabela 17. Vrednosti biohemijskih parametara u krvi pacova u sredini sa temperaturom 12°C žrtvovanih posle 24 sata

Biohemijski parametri		Kontrolna grupa	Eksperimentalne grupe	
			20 mg/kg MDMA	40 mg/kg MDMA
Glukoza (mmol/L)	Min	7,0	7,80	7,20
	Max	10,50	10,40	11,00
	$\bar{X} \pm SD$	8,83 $\pm$ 1,15	8,89 $\pm$ 0,84	9,44 $\pm$ 1,23
BUN (mmol/L)	Min	8,10	7,50	6,10
	Max	11,80	20,60	10,6
	$\bar{X} \pm SD$	9,03 $\pm$ 1,28	10,35 $\pm$ 4,26	9,04 $\pm$ 1,39
Osmolalitet (Osm/kg)	Min	310,00	299,00	303,00
	Max	329,00	313,00	317,00
	$\bar{X} \pm SD$	320,00 $\pm$ 6,44	304,00 $\pm$ 4,99	312,38 $\pm$ 4,37
Kreatinin ( $\mu$ mol/L)	Min	64,00	55,00	60,00
	Max	82,00	88,00	85,00
	$\bar{X} \pm SD$	73,00 $\pm$ 6,46	68,50 $\pm$ 9,46	76,75 $\pm$ 8,00
Kalcijum (mmol/L)	Min	2,27	2,56	2,45
	Max	2,64	2,80	2,72
	$\bar{X} \pm SD$	2,50 $\pm$ 0,12	2,68 $\pm$ 0,09	2,55 $\pm$ 0,10
Natrijum (mmol/L)	Min	153,00	146,00	151,00
	Max	162,00	152,00	155,00
	$\bar{X} \pm SD$	157,63 $\pm$ 2,97	148,25 $\pm$ 1,75	153,25 $\pm$ 1,28
Kalijum (mmol/L)	Min	4,20	4,20	4,30
	Max	6,10	6,00	5,90
	$\bar{X} \pm SD$	5,15 $\pm$ 0,58	5,19 $\pm$ 0,57	5,25 $\pm$ 0,50
Hlor (mmol/L)	Min	114,00	108,00	108,00
	Max	122,00	114,00	114,00
	$\bar{X} \pm SD$	117,75 $\pm$ 2,82	110,75 $\pm$ 1,91	112,12 $\pm$ 2,36
AST (U/L)	Min	109,00	121,00	141,00
	Max	263,00	984,00	616,00
	$\bar{X} \pm SD$	165,50 $\pm$ 46,99	265,25 $\pm$ 292,35	269,00 $\pm$ 151,51
CK (U/L)	Min	280,00	571,00	349,00
	Max	1249,00	1486,00	1652,00
	$\bar{X} \pm SD$	730,88 $\pm$ 358,85	897,13 $\pm$ 330,67	855,63 $\pm$ 429,00
LDH (U/L)	Min	174,00	448,00	252,00
	Max	925,00	1216,00	1116,00
	$\bar{X} \pm SD$	586,88 $\pm$ 267,09	772,25 $\pm$ 296,05	664,50 $\pm$ 294,00

Tabela 18. Vrednosti biohemijskih parametara u krvi pacova u sredini sa temperaturom 22°C žrtvovanih posle 24 sata

Biohemijski parametri		Kontrolna grupa	Eksperimentalne grupe	
			20 mg/kg MDMA	40 mg/kg MDMA
Glukoza (mmol/L)	Min	8,10	8,20	0,20
	Max	10,30	11,70	10,00
	$\bar{X} \pm SD$	9,15 $\pm$ 0,80	9,89 $\pm$ 1,08	6,01 $\pm$ 4,09
BUN (mmol/L)	Min	7,50	7,90	8,70
	Max	9,50	31,60	15,30
	$\bar{X} \pm SD$	8,34 $\pm$ 0,75	12,20 $\pm$ 7,90	11,41 $\pm$ 2,33
Osmolalitet (Osm/kg)	Min	307,00	306,00	291,00
	Max	321,00	335,00	319,00
	$\bar{X} \pm SD$	314,13 $\pm$ 5,51	314,50 $\pm$ 9,35	304,88 $\pm$ 9,25
Kreatinin ( $\mu$ mol/L)	Min	68,00	70,00	69,00
	Max	76,00	169,00	173,00
	$\bar{X} \pm SD$	72,38 $\pm$ 2,67	88,00 $\pm$ 33,16	102,00 $\pm$ 32,95
Kalcijum (mmol/L)	Min	2,63	2,53	2,14
	Max	2,83	2,89	2,80
	$\bar{X} \pm SD$	2,75 $\pm$ 0,07	2,75 $\pm$ 0,12	2,53 $\pm$ 0,21
Natrijum (mmol/L)	Min	150,00	149,00	142,00
	Max	159,00	154,00	156,00
	$\bar{X} \pm SD$	154,75 $\pm$ 3,24	152,38 $\pm$ 1,85	148,38 $\pm$ 4,47
Kalijum (mmol/L)	Min	4,50	4,30	4,70
	Max	6,20	5,60	13,50
	$\bar{X} \pm SD$	5,26 $\pm$ 0,52	5,18 $\pm$ 0,47	7,40 $\pm$ 2,63
Hlor (mmol/L)	Min	109,00	105,00	109,00
	Max	115,00	117,00	118,00
	$\bar{X} \pm SD$	112,25 $\pm$ 1,83	112,25 $\pm$ 3,54	112,63 $\pm$ 3,02
AST (U/L)	Min	117,00	125,00	209,00
	Max	211,00	801,00	876,00
	$\bar{X} \pm SD$	139,63 $\pm$ 31,44	249,13 $\pm$ 227,98	370,75 $\pm$ 215,80
CK (U/L)	Min	401,00	317,00	926,00
	Max	1136,00	1340,00	2785,00
	$\bar{X} \pm SD$	770,08 $\pm$ 281,62	768,88 $\pm$ 372,33	1598,50 $\pm$ 566,37
LDH (U/L)	Min	410,00	282,00	865,00
	Max	905,00	1086,00	2432,00
	$\bar{X} \pm SD$	580,38 $\pm$ 198,38	644,25 $\pm$ 238,29	1476,38 $\pm$ 647,68



Tabela 19. Vrednosti biohemijskih parametara u krvi pacova u sredini sa temperaturom 32°C žrtvovanih posle 24 sata

Biohemijski parametri		Kontrolna grupa	Eksperimentalne grupe	
			20 mg/kg MDMA	40 mg/kg MDMA
Glukoza (mmol/L)	Min	7,10	6,90	4,40
	Max	9,00	10,50	10,20
	$\bar{X} \pm SD$	8,04 $\pm$ 0,68	8,64 $\pm$ 1,25	6,86 $\pm$ 1,91
BUN (mmol/L)	Min	8,70	10,20	7,80
	Max	10,60	15,20	15,20
	$\bar{X} \pm SD$	9,49 $\pm$ 0,63	11,94 $\pm$ 1,84	11,60 $\pm$ 2,71
Osmolalitet (Osm/kg)	Min	298,00	300,00	303,00
	Max	310,00	323,00	328,00
	$\bar{X} \pm SD$	303,88 $\pm$ 3,64	309,13 $\pm$ 7,38	315,63 $\pm$ 7,73
Kreatinin ( $\mu$ mol/L)	Min	55,00	59,00	61,00
	Max	66,00	160,00	95,00
	$\bar{X} \pm SD$	60,50 $\pm$ 4,11	83,88 $\pm$ 31,88	73,38 $\pm$ 12,30
Kalcijum (mmol/L)	Min	2,40	2,47	2,42
	Max	2,75	2,70	2,71
	$\bar{X} \pm SD$	2,54 $\pm$ 0,12	2,56 $\pm$ 0,09	2,59 $\pm$ 0,11
Natrijum (mmol/L)	Min	147,00	147,00	148,00
	Max	152,00	161,00	161,00
	$\bar{X} \pm SD$	149,13 $\pm$ 1,55	150,88 $\pm$ 4,67	155,00 $\pm$ 4,00
Kalijum (mmol/L)	Min	4,80	4,50	3,80
	Max	6,30	6,00	5,60
	$\bar{X} \pm SD$	5,50 $\pm$ 0,47	5,05 $\pm$ 0,55	4,70 $\pm$ 0,66
Hlor (mmol/L)	Min	108,00	105,00	111,00
	Max	111,00	125,00	120,00
	$\bar{X} \pm SD$	109,38 $\pm$ 1,06	111,38 $\pm$ 6,00	115,00 $\pm$ 2,83
AST (U/L)	Min	141,00	184,00	226,00
	Max	252,00	882,00	1376,00
	$\bar{X} \pm SD$	173,63 $\pm$ 34,79	486,88 $\pm$ 267,18	644,25 $\pm$ 431,10
CK (U/L)	Min	869,00	298,00	585,00
	Max	2375,00	2638,00	2505,00
	$\bar{X} \pm SD$	1505,63 $\pm$ 627,88	1186,50 $\pm$ 948,65	1520,50 $\pm$ 685,73
LDH (U/L)	Min	633,00	738,00	391,00
	Max	1646,00	1691,00	1476,00
	$\bar{X} \pm SD$	1116,25 $\pm$ 340,96	1103,88 $\pm$ 402,28	946,13 $\pm$ 348,48

## 5.5.2. Odnos između vrednosti biohemijskih parametara u krvi pacova

Za analizu odnosa između vrednosti biohemijskih parametara u krvi pacova je korišćen parametrijski test jednosmerne analize varijansi - ANOVA. Dobijeni rezultati su predstavljeni u tabelama 20 i 21.

Tabela 20. Odnos između vrednosti biohemijskih parametara u krvi pacova

Temperatura sredine i vreme žrtvovanja pacova		Biohemijski parametri		
		Glukoza	BUN	Osmolalitet
12°C	8 sati	p<0,00001*	p=0,0064*	p=0,6367
	24 sata	p=0,7689	p=0,6413	p=0,00002*
22°C	8 sati	p=0,00015*	p=0,0053	p=0,0001*
	24 sata	p=0,0122*	p=0,2545	p=0,048*
32°C	8 sati	p<0,00001*	p=0,000016*	p=0,00002*
	24 sata	p=0,0506*	p=0,0389*	p=0,0062*
Temperatura sredine i vreme žrtvovanja pacova		Kreatinin	Kalcijum	Natrijum
12°C	8 sati	p=0,0101*	p=0,0660	p=0,0001
	24 sata	p=0,1475	p=0,0070*	p<0,0001*
22°C	8 sati	p=0,0027*	p=0,0011*	p=0,0273*
	24 sata	p=0,1147	p=0,0077*	p=0,0038*
32°C	8 sati	p=0,00015*	p=0,9034	p=0,0048*
	24 sata	p=0,0851*	p=0,699	p=0,0126*

\* statistički značajna razlika

Tabela 21. Odnos između vrednosti biohemijskih parametara u krvi pacova

Temperatura sredine i vreme žrtvovanja pacova		Biohemijski parametri		
		Kalijum	Hlor	AST
12°C	8 sati	p=0,0068*	p=0,0016*	p=0,1060
	24 sata	p=0,06732	p=0,000018*	p=0,4857
22°C	8 sati	p=0,4120	p=0,0285*	p=0,0041*
	24 sata	p=0,1534	p=0,9560	p=0,061
32°C	8 sati	p=0,0312*	p=0,004*	p=0,0002*
	24 sata	p=0,032*	p=0,0267*	p=0,0134*
Temperatura sredine i vreme žrtvovanja pacova		CK	LDH	
12°C	8 sati	p=0,4153	p=0,21982	
	24 sata	p=0,6589	p=0,4426	
22°C	8 sati	p=0,016*	p=0,4426	
	24 sata	p=0,0008*	p=0,0003*	
32°C	8 sati	p=0,0482*	p=0,0002*	
	24 sata	p=0,6228	p=0,5903	

\* statistički značajna razlika

#### Biohemijski parametri u krvi pacova u sredini sa temperaturom 12°C žrtvovanih posle 8 sati

Kod pacova u kontrolnoj grupi srednja vrednost glukoze u krvi je bila statistički značajno veća u odnosu na eksperimentalne grupe (20 mg/kg i 40 mg/kg MDMA) ( $p < 0,00001$ ).

Kod pacova u eksperimentalnoj grupi (40 mg/kg MDMA) srednje vrednosti BUN ( $p=0,0064$ ), kreatinina ( $p=0,0101$ ), natrijuma ( $p=0,0001$ ), kalijuma ( $p=0,0068$ ) i hlora ( $p=0,0016$ ) u krvi su bile statistički značajno veće u odnosu na kontrolnu grupu i eksperimentalnu grupu (20 mg/kg MDMA).

**Biohemijski parametri u krvi pacova u sredini sa temperaturom 12°C  
žrtvovanih posle 24 sata**

Kod pacova u kontrolnoj grupi srednja vrednost osmolaliteta u krvi je bila statistički značajno veća u odnosu na eksperimentalne grupe (MDMA od 20 mg/kg i 40 mg/kg) ( $p=0,00002$ ).

Kod pacova u eksperimentalnoj grupi (20 mg/kg MDMA) srednja vrednost kalcijuma u krvi je bila statistički značajno veća u odnosu na kontrolnu grupu i eksperimentalnu grupu (40 mg/kg MDMA) ( $p=0,007$ ).

Kod pacova u eksperimentalnoj grupi (40 mg/kg MDMA) srednje vrednosti natrijuma ( $p<0,0001$ ) i hlora ( $p=0,000018$ ) u krvi su bile statistički značajno veće u odnosu na kontrolnu grupu i eksperimentalnu grupu (20 mg/kg MDMA).

**Biohemijski parametri u krvi pacova u sredini sa temperaturom 22°C  
žrtvovanih posle 8 sati**

Kod pacova u kontrolnoj grupi srednje vrednosti glukoze ( $p=0,00015$ ), osmolaliteta ( $p=0,0001$ ) i kalcijuma ( $p=0,0011$ ) u krvi su bile statistički značajno veće u odnosu na eksperimentalne grupe (20 mg/kg i 40 mg/kg MDMA).

Kod pacova u eksperimentalnoj grupi (40 mg/kg MDMA) srednje vrednosti kreatinina ( $p=0,0027$ ), natrijuma ( $p=0,0273$ ), hlora ( $p=0,0285$ ), AST ( $p=0,004$ ), CK ( $p=0,016$ ) i LDH ( $p=0,021$ ) u krvi su bile statistički značajno veće u odnosu na kontrolnu grupu i eksperimentalnu grupu (20 mg/kg MDMA).

**Biohemijski parametri u krvi pacova u sredini sa temperaturom 22°C  
žrtvovanih posle 24 sata**

Kod pacova u kontrolnoj grupi srednja vrednost natrijuma u krvi je bila statistički značajno veća u odnosu na eksperimentalne grupe (20 mg/kg i 40 mg/kg MDMA) ( $p=0,0038$ ).

Srednje vrednosti glukoze ( $p=0,0122$ ) i osmolaliteta ( $p=0,048$ ) u krvi kod pacova u eksperimentalnoj grupi (20 mg/kg MDMA) su bile statistički značajno veće u odnosu na kontrolnu grupu i eksperimentalnu grupu (40 mg/kg MDMA).

Srednja vrednost kalcijuma u krvi kod pacova u eksperimentalnoj grupi (40 mg/kg MDMA) je bila statistički značajno niža u odnosu na kontrolnu grupu i eksperimentalnu grupu (20 mg/kg MDMA) ( $p=0,0077$ ).

Kod pacova u eksperimentalnoj grupi (40 mg/kg MDMA) srednje vrednosti CK ( $p=0,0008$ ) i LDH ( $p=0,0003$ ) u krvi su bile statistički značano veće u odnosu na kontrolnu grupu i eksperimentalnu grupu (20 mg/kg MDMA).

#### **Biohemijski parametri u krvi pacova u sredini sa temperaturom 32°C žrtvovanih posle 8 sati**

Kod pacova u eksperimentalnoj grupi (40 mg/kg MDMA) srednje vrednosti BUN ( $p=0,000016$ ), osmolaliteta ( $p=0,00002$ ), kreatinina ( $p=0,00015$ ), natrijuma ( $p=0,0048$ ), kalijuma ( $p=0,0312$ ), hlora ( $p=0,004$ ), AST ( $p=0,0002$ ), CK ( $p=0,0482$ ) i LDH ( $p=0,0002$ ) u krvi su bile statistički značajno veće u odnosu na kontrolnu grupu i eksperimentalnu grupu (20 mg/kg MDMA).

Srednja vrednost glukoze u krvi kod pacova u eksperimentalnoj grupi (20 mg/kg MDMA) je bila statistički značajno niža u odnosu na kontrolnu grupu i eksperimentalnu grupu (40 mg/kg MDMA) ( $p<0,00001$ ).

#### **Biohemijski parametri u krvi pacova u sredini sa temperaturom 32°C žrtvovanih posle 24 sata**

Kod pacova u kontrolnoj grupi srednja vrednost kalijuma u krvi je bila statistički značajno veća u odnosu na eksperimentalne grupe (20 mg/kg i 40 mg/kg MDMA).

Srednje vrednosti glukoze ( $p=0,0506$ ), kreatinina ( $p=0,0851$ ) i BUN ( $p=0,0389$ ) u krvi kod pacova u eksperimentalnoj grupi (20 mg/kg MDMA) su bile statistički značajno veće u odnosu na kontrolnu grupu i eksperimentalnu grupu (40 mg/kg MDMA).

Kod pacova u eksperimentalnoj grupi (40 mg/kg MDMA) srednje vrednosti osmolaliteta ( $p=0,0062$ ), natrijuma ( $p=0,0126$ ), hlora ( $p=0,0267$ ) i AST ( $p=0,0134$ ) u krvi su bile statistički značajno veće u odnosu na kontrolnu grupu i eksperimentalnu grupu (20 mg/kg MDMA).

### **5.6. POVEZANOST IZMEĐU PATOHISTOLOŠKIH PROMENA U BUBREZIMA I VREDNOSTI BIOHEMIJSKIH PARAMETARA U KRVU PACOVA**

Analizirana je povezanost između prisustva patohistoloških promena (intersticijalni edem i nekroza bubrežnih tubula) u bubrezima i vrednosti biohemijskih parametara u krvi pacova u svim grupama, kod kojih su ove patohistološke promene bile prisutne. Za analizu je korišćen neparametrijski Mann-Whitney-Wilcoxon test za dva međusobno nezavisna slučajna uzorka. Dobijeni rezultati su predstavljeni u tabeli 22.

Tabela 22. Povezanost između patohistoloških promena (intersticijalni edem i nekroza bubrežnih tubula) u bubrežima i vrednosti biohemijskih parametara u krvi pacova

BIOHEMIJSKI PARAMETRI	PATOHIŠTOLOŠKE PROMENE	
	Intersticijalni edem	Nekroza bubrežnih tubula
<b>Glukoza</b>	p=0,758	p=0,268
<b>BUN</b>	p=0,182	p=0,073
<b>Osmolalitet</b>	p=0,182	p=0,202
<b>Kreatinin</b>	p=0,606	p=0,268
<b>Kalcijum</b>	p=0,909	p=0,149
<b>Natrijum</b>	p=0,364	p=0,202
<b>Kalijum</b>	p=0,485	p=0,432
<b>Hlor</b>	p=0,758	p=0,432
<b>AST</b>	p=0,485	p=0,048 *
<b>CK</b>	p=0,606	p=0,005 *
<b>LDH</b>	p=0,182	p=0,106

\* statistički značajna razlika

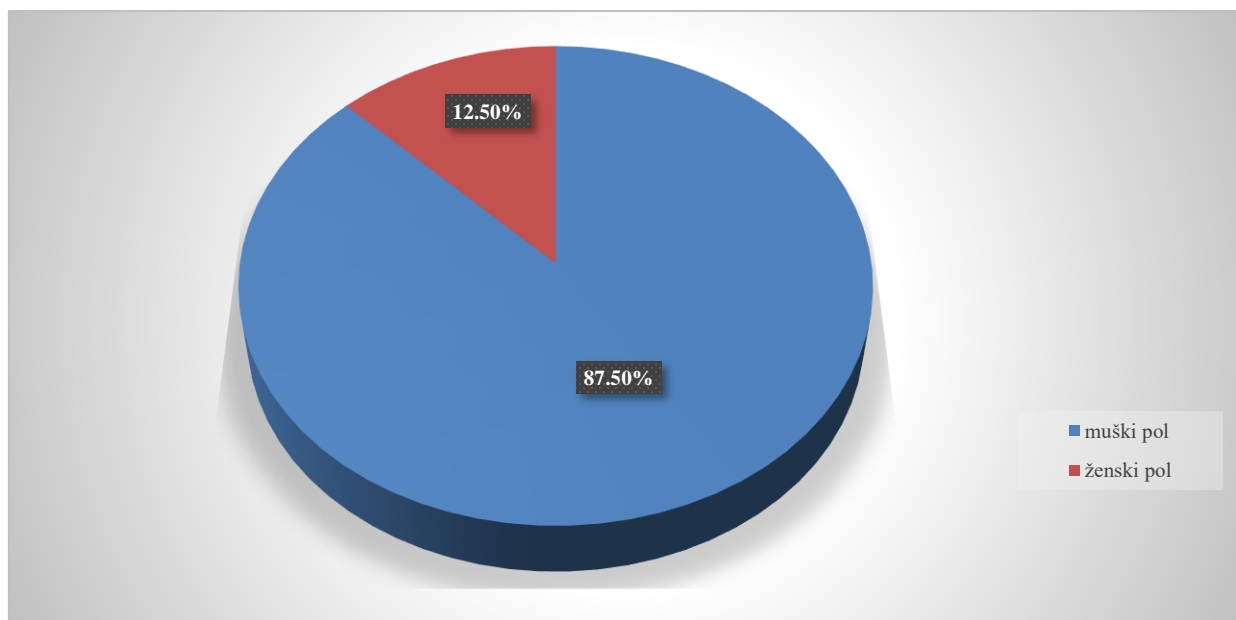
Nije postojala statistički značajna razlika vrednosti glukoze, BUN, osmolaliteta, kreatinina, kalcijuma, natrijuma, kalijuma, hlora, AST, CK i LDH u krvi kod pacova kod kojih je bio prisutan intersticijalni edem i pacova kod kojih nije bio prisutan intersticijalni edem u bubrežima.

Vrednosti AST (0,048) i CK (0,005) u krvi kod pacova kod kojih je bila prisutna nekroza bubrežnih tubula su bile statistički značajno veće u odnosu na pacove kod kojih nije bila prisutna nekroza bubrežnih tubula.

Nije postojala statistički značajna razlika vrednosti glukoze, BUN, osmolaliteta, kreatinina, kalcijuma, natrijuma, kalijuma, hlora, LDH u krvi između pacova kod kojih je bila prisutna nekroza bubrežnih tubula i pacova kod kojih nije bila prisutna nekroza bubrežnih tubula.

## 5.7. HUMANI KADAVERI UMRLI USLED TROVANJA LETALNIM DOZAMA MDMA

U ovom istraživanju je bilo uključeno osam humanih kadavera (7 muškog pola i 1 ženskog pola) (Grafikon 55), životne dobi od 15 do 27 godina, koji su umrli usled trovanja letalnim dozama MDMA.



Grafikon 55. Polna struktura humanih kadavera umrlih usled trovanja letalnim dozama MDMA

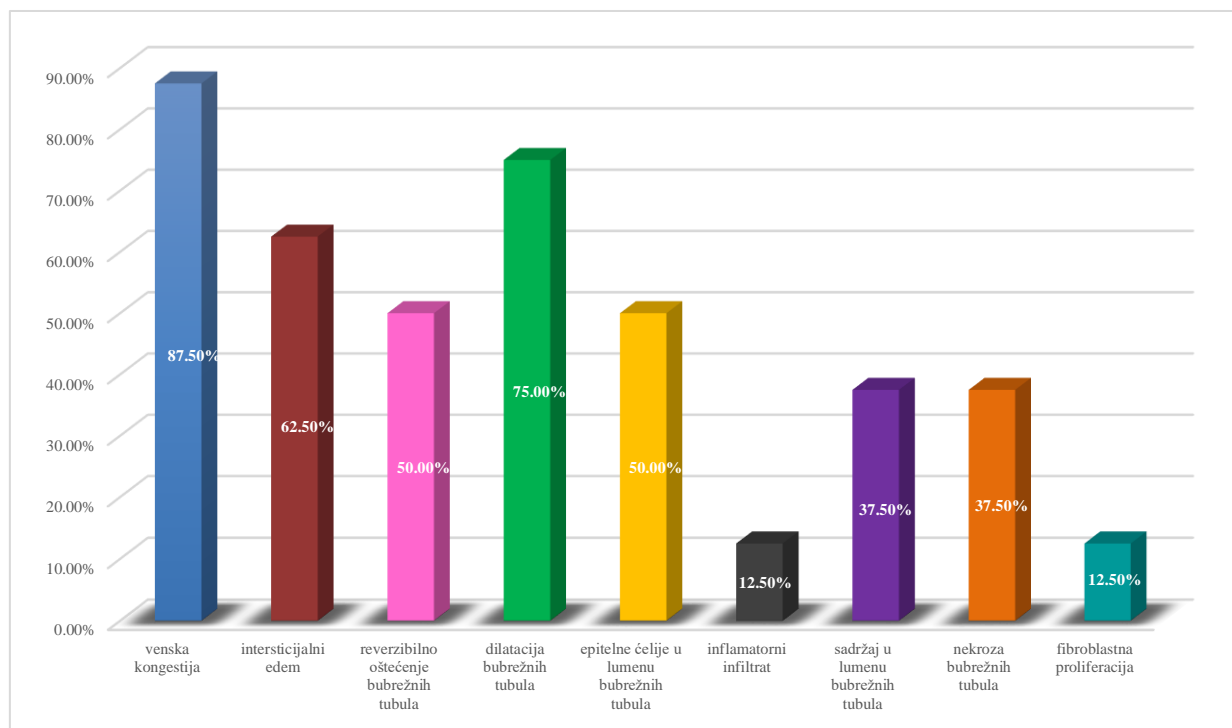
### 5.7.1. Patohistološke promene u bubrezima humanih kadavera

Patohistološkom analizom uzoraka tkiva bubrega humanih kadavera su ustanovljene patohistološke promene: venska kongestija, intersticijalni edem, reverzibilno oštećenje bubrežnih tubula, dilatacija bubrežnih tubula, epitelne ćelije u lumenu bubrežnih tubula, inflamatorni infiltrat, sadržaj u lumenu bubrežnih tubula, nekroza bubrežnih tubula i fibroblastna proliferacija. Prisustvo ovih patohistoloških promena kod humanih kadavera je predstavljeno u tabeli 23. Vrste patohistoloških promena i njihova procentualna zastupljenost u bubrezima humanih kadavera su predstavljene grafikonom 56.

Tabela 23. Patohistološke promena u bubrezima humanih kadavera

Humani kadaveri	PATOHIŠTOLOŠKE PROMENE U BUBREZIMA								
	venska kongestija	intersticijalni edem	reverzibilno oštećenje bubrežnih tubula	dilatacija bubrežnih tubula	epitelne ćelije u lumenu bubrežnih tubula	inflamatorni infiltrat	sadržaj u lumenu bubrežnih tubula	nekroza bubrežnih tubula	fibroblastna proliferacija
1	-	+	+	+	-	-	+	+	-
2	+	+	+	+	-	-	-	+	-
3	+	+	+	-	-	-	-	+	-
4	+	+	+	+	+	-	-	-	-
5	+	+	-	+	+	-	-	-	-
6	+	-	-		-	-	-	-	-
7	+	-	-	+	+	-	+	-	+
8	+	-	-	+	+	+	+	-	-

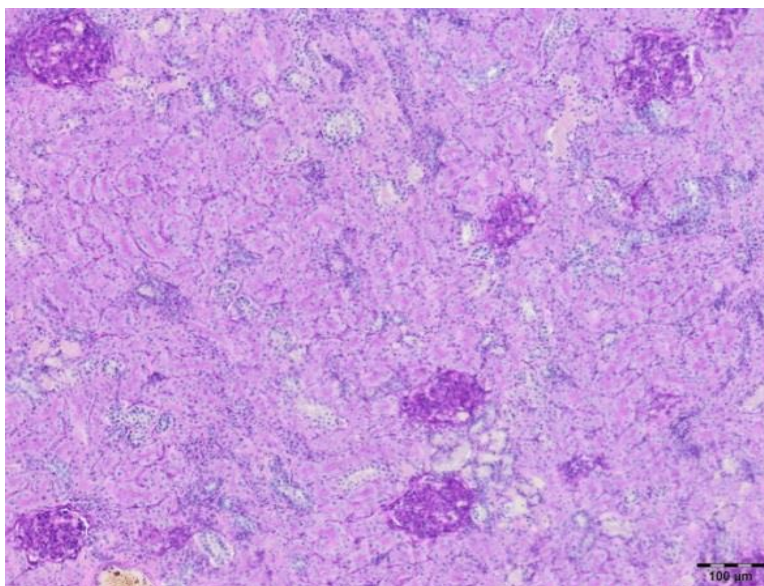




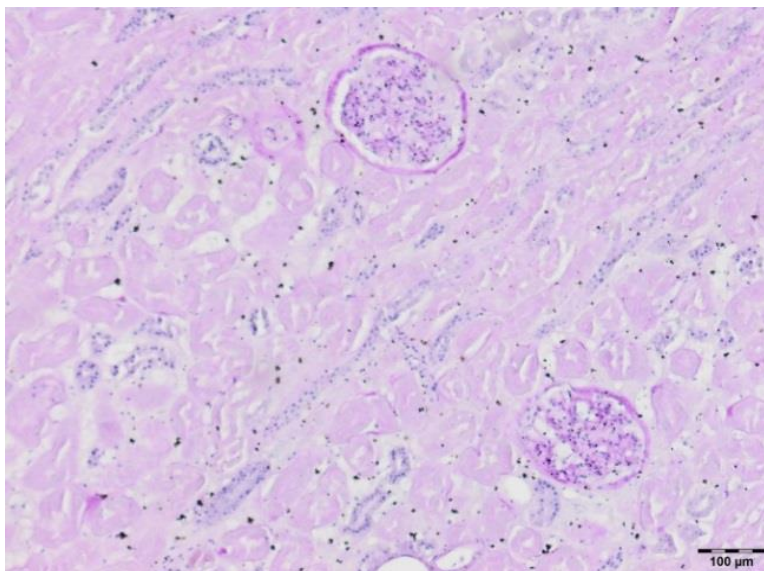
Grafikon 56. Vrste patohistoloških promena i njihova procentualna zastupljenost u bubrežima humanih kadavera

### 5.8. PERIODIC ACID SCHIFF (PAS) - MC MANUS BOJENJE PATOHIŠTOLOŠKIH UZORAKA TKIVA BUBREGA HUMANIH KADAVERA

Patohistološki uzorci tkiva bubrega humanih kadavera su bojeni specijalnom metodom Periodic Acid Schiff (PAS) - Mc Manus. Zadebljanje bazalne membrane glomerula bubrega, kod koje je bila prisutna pozitivnost na PAS bojenje je ustanovljeno kod dva humana kadavera (Slika 21), a zadebljanje bazalne membrane glomerula bubrega i sadržaj u lumenu bubrežnih tubula, kod kojih je bila prisutna pozitivnost na PAS bojenje kod jednog humanog kadavera (Slika 22).



Slika 21. Zadebljanje bazalne membrane glomerula bubrega (PAS, Mc Manus, 40x)



Slika 22. Zadebljanje bazalne membrane glomerula bubrega i sadržaj u lumenu bubrežnih tubula (PAS, Mc Manus, 40x)

### 5.9. MORFOMETRIJSKA ANALIZA PATOHISTOLOŠKIH PROMENA U BUBREZIMA HUMANIH KADAVERA

Patohistološke promene (intersticijalni edem, epitelne ćelije u lumenu bubrežnih tubula i nekroza bubrežnih tubula) u bubrežima humanih kadavera su kvantitativno analizirane morfometrijskim merenjem. Intersticijalni edem je bio prisutan kod pet, epitelne ćelije u lumenu bubrežnih tubula kod dva i nekroza bubrežnih tubula kod četiri humana kadavera. Površine intersticijalnog edema i nekroze bubrežnih tubula su kvantitativno analizirane morfometrijskim merenjem su izražene kao procenat (%) koji zahvata intersticijalni edemu od ukupne površine vidnog polja. Površine koje zahvataju epitelne ćelije u lumenu bubrežnih tubula su kvantitativno analizirane morfometrijskim merenjem i izražene u  $\text{pix}^2$ . Dobijeni rezultati su predstavljeni deskriptivnom statistikom (minimalna i maksimalna vrednost, aritmetička sredina -  $\bar{X}$  i standardna devijacija - SD) u tabeli 24.

Tabela 24. Morfometrijska analiza patohistoloških promena u bubrežima humanih kadavera

HUMANI KADAVERI	PATOHISTOLOŠKE PROMENE	MIN	MAX	$\bar{X} \pm \text{SD}$
1	intersticijalni edem	27,09	38,10	34,28±4,45
	epitelne ćelije u lumenu bubrežnih tubula	107714	0	0
2	intersticijalni edem	21,51	31,58	27,25±4,21
	nekroza bubrežnih tubula	59,79	66,31	63,05±4,61
3	intersticijalni edem	21,25	39,74	32,03±6,88
	epitelne ćelije u lumenu bubrežnih tubula	211390	0	0
	nekroza bubrežnih tubula	51,82	76,75	61,11±9,71
4	intersticijalni edem	31,65	47,03	39,14±6,95
	nekroza bubrežnih tubula	50,28	74,78	64,65±8,89
5	intersticijalni edem	25,13	62,57	48,07±14,59
	nekroza bubrežnih tubula	37,62	81,87	59,65±18,16

### **5.10. ODNOS IZMEĐU MORFOMETRIJSKI ANALIZIRANIH PATOHISTOLOŠKIH PROMENA U BUBREZIMA PACOVA I HUMANIH KADAVERA**

Primenom parametrijskog Studentovog t-testa je statistički analiziran odnos između morfometrijski analiziranih patohistoloških promena (intersticijalni edem i nekroza bubrežnih tubula) u bubrežima pacova i humanih kadavera.

Nije postojala statistički značajna ( $p=0,13$ ) razlika između morfometrijski analiziranih površina intersticijalnog edema kod pacova žrtvovanih posle 8 sati i humanih kadavera.

Morfometrijski analizirane površine intersticijalnog edema kod humanih kadavera su bile statistički značajno veće ( $p=0,005$ ) u odnosu na eksperimentalne grupe pacova (20 mg/kg i 40 mg/kg MDMA) žrtvovanih posle 24 sata.

Nije postojala statistički značajna razlika ( $p=0,167$ ) između morfometrijski analiziranih površina nekroze bubrežnih tubula kod pacova žrtvovanih posle 8 sati i humanih kadavera.

Nije postojala statistički značajna razlika ( $p=0,345$ ) između morfometrijski analiziranih površina nekroze bubrežnih tubula kod pacova žrtvovanih posle 24 sata i humanih kadavera.

### **5.11. VREDNOSTI BIOHEMIJSKIH PARAMETARA U KRVI HUMANIH KADAVERA**

Analizirane su vrednosti biohemijskih parametara (glukoza, BUN, osmolalitet, kreatinin, kalcijum, natrijum, kalijum, hlor, AST, CK i LDH) u krvi humanih kadavera. Vrednosti biohemijskih parametara humanih kadavera su predstavljene deskriptivnom statistikom (minimalna i maksimalna vrednost, aritmetička sredina -  $\bar{X}$  i standardna devijacija - SD) u tabelama 25 i 26.

Tabela 25. Vrednosti biohemijskih parametara humanih kadavera

Humani kadaveri	Glukoza (mmol/L)	BUN (mmol/L)	Osmolalitet (Osm/kg)	Kreatinin ( $\mu$ mol/L)	Kalcijum (mmol/L)	Natrijum (mmol/L)
1	5,40	8,10	278,00	405,00	1,90	144,00
2	8,10	27,10	282,00	295,00	2,10	209,00
3	4,30	22,30	295,00	345,00	1,70	147,00
4	3,30	10,20	301,00	453,00	1,80	152,00
5	5,60	9,80	282,00	128,00	2,10	122,00
6	2,60	11,70	270,00	287,00	2,20	131,00
7	1,60	17,60	285,00	326,00	1,60	138,00
8	7,10	1,50	280,00	66,00	2,14	128,00
Min	1,60	1,50	270,00	66,00	1,60	122,00
Max	8,10	27,10	301,00	453,00	2,20	209,00
$\bar{X}\pm SD$	4,86 $\pm$ 2,23	13,54 $\pm$ 8,28	284,12 $\pm$ 9,76	288,12 $\pm$ 131,22	1,94 $\pm$ 0,22	146,37 $\pm$ 27,25

Tabela 26. Vrednosti biohemijskih parametara humanih kadavera

Humani kadaveri	Kalijum (mmol/L)	Hlor (mmol/L)	AST (U/L)	CK (U/L)	LDH (U/L)
1	6,20	108,00	305,00	4930,00	456,00
2	2,20	109,00	291,0	2345,00	1056,00
3	3,20	96,00	325,00	2570,00	1676,00
4	3,60	101,00	485,00	780,00	987,00
5	4,20	102,00	567,00	1389,00	765,00
6	4,10	97,00	345,00	3458,00	3045,00
7	3,80	99,00	1193,00	650,00	3448,00
8	3,60	96,00	38,00	299,00	147,00
Min	2,20	96,00	38,00	299,00	147,00
Max	6,20	109,00	1193,00	4930,00	3448,00
$\bar{X}\pm SD$	3,86 $\pm$ 1,13	101,00 $\pm$ 5,13	443,62 $\pm$ 340,03	2052,62 $\pm$ 1590,60	1447,50 $\pm$ 1201,89

## 6. DISKUSIJA

U ovom istraživanju je posmatrana promena telesne temperature pacova u odnosu na temperaturu sredine u kojoj su se nalazili i aplikovanu dozu MDMA. Takođe su posmatrane i morfometrijski analizirane patohistološke promene u bubrezima i promene vrednosti biohemijskih parametra u krvi pacova i humanih kadavera nastale kao posledica korišćenja MDMA.

### 6.1. TELESNA TEMPERATURA PACOVA

Povišene vrednosti telesne temperature (hipertermija) nastaje kao posledica korišćenja MDMA, što je pokazano u mnogim istraživanjima (21, 126, 127). Fizička aktivnost, periferna vazokonstrikcija, slabljenje termoregulacionih mehanizama u centralnom nervnom sistemu, gubitak osećaja žeđi, iscrpljenost, euforija, povećani mišićni tonus dovode do hipertermije, koja je posledica korišćenja MDMA (92, 128, 129). MDMA indukovana hipertermija je rezultat interakcije između hipotalamusa - hipofize - štitaste žlezde i simpatičkog nervnog sistema. Serotonin ima najznačajniji efekat na termoregulacioni centar u preoptičkom delu hipotalamusa i simpatičkom centru sa posledičnim oslobađanjem kateholamina (130, 131). To direktno pojačava metabolizam u mitohondrijama ćelija i indirektno stvara hiperacidozu tkiva i oštećenje ćelija usled stimulacije i dehidracije. Studije sprovedene na laboratorijskim životinjama opisuju hipertermički odgovor kod životinja usled korišćenja MDMA, koji je isti kao i kod ljudi (132, 133, 134). In vitro studije, koje su koristile neuronske kulture pokazale su da neurotoksična dejstva indukovana MDMA potenciraju hipertermiju (135, 136).

U ovom istraživanju, kao i u mnogim drugim istraživanjima, vrednosti telesne temperature pacova, kojima je aplikovan rastvor MDMA su se povećavale u svim sredinama u kojima su se nalazili, bez obzira na vreme žrtvovanja. Veće vrednosti telesne temperature su registrovane kod pacova, koji su se nalazili u sredini sa višom temperaturom, sa većom aplikovanom dozom MDMA i izloženošću dejstva MDMA u dužem vremenskom periodu. Najveće vrednosti telesne temperature su bile kod pacova u sredini sa temperaturom 32°C u eksperimentalnoj grupi (40 mg/kg MDMA) žrtvovanih posle 24 sata od početka eksperimenta. Kod ovih pacova su vrednosti telesne temperature bile i preko 42°C (93). Vrednosti telesne temperature pacova su bile povećane nakon aplikovanja manje i veće doze (20 mg/kg i 40 mg/kg) MDMA, što ukazuje da receptori termoregulacionog centra u hipotalamusu reaguju maksimalnim odgovorom na manje i veće doze MDMA (137). U sredinama sa višim temperaturama dolazi do većeg i bržeg porasta vrednosti telesne temperature i njeno duže održavanje. Doza MDMA od 20 mg/kg i 40 mg/kg kod pacova dovodi do značajnog hipertemičkog efekta. To je u skladu sa istraživanjima, koja pokazuju da MDMA i drugi amfetaminski derivati dovode do poremećaja termoregulacije, tako što dovode do

povećanja oslobađanje 5-HT iz serotoničkih nervnih završetaka i povećane stimulacije 5-HT receptora, koji su uključeni u termoregulaciju (138). Hipertermički efekat pojačava i dehidracija organizma, koja direktno deluje na hipotalamički centar za termoregulaciju, povećavajući telesni temperaturu. Najznačajniji efekat serotonina je na termoregulacioni centar u preoptičkom delu hipotalamusa i simpatičkom centru, što dovodi do oslobađanja kateholamina. To direktno stimuliše metabolizam mitohondrija u ćelijama i indirektno stvara hiperacidozu u tkivima i oštećenje ćelija, koje je posledica dehidracije (117, 139).

U toku eksperimenta pacovi kojima su aplikovane obe doze MDMA, a naročito oni kojima je aplikovana doza 40 mg/kg MDMA su se znojili, a pri tome nisu pili vodu. Nakon aplikovanja MDMA pacovi su bez obzira na dozu, povećavali svoju fizičku aktivnost. Već posle petnaest minuta su se intenzivno kretali i u prvih nekoliko sati eksperimenta nisu mirovali. Tom aktivnošću su takođe povećavali telesnu temperaturu. Direktno dejstvo MDMA na centar za termoregulaciju u hipotalamusu dovodi do naglog porasta telesne temperature (127, 140). Znojenje i neuzimanje vode dovode do dehidracije organizma, što opet direktno stimuliše termoregulacioni centar u hipotalamusu. Pošto se MDMA koristi na „rave“ zabavama, gde je relativno visoka temperatura prostorija, smatra se da hipertermija uz dugotrajnu hiperaktivnost (igranje) može kod ljudi da dovede do smrtnog ishoda (141). Smrtni slučajevi ljudi nastali trovanjem MDMA najčešće nastaju zbog hipertermije i toplotnog udara (142).

## **6.2. PATOHISTOLOŠKE PROMENE U BUBREZIMA PACOVA I HUMANIH KADAVERA**

Bubrezi predstavljaju vitalne organe i neophodni su za održavanje normalnih životnih funkcija. Oni imaju važnu ulogu u otklanjanju štetnih materija iz organizma, pa su zbog toga dosta podložni toksičnim oštećenjima. Razlog zašto su bubrezi podložni toksičnim oštećenjima je zbog njihove obilne vaskularizacije. Bubrezi primaju oko 20 - 25% krvi iz krvotoka, tako da se mnogi toksini (endogeni i egzogeni) u dosta velikoj količini mogu nakupljati u njima. Jedna od mnogobrojnih nefrotoksičnih supstanci je MDMA (143).

MDMA može da dovede do akutnog bubrežnog oštećenja, što je prvi put opisano u literaturi 1992. godine. U ovom radu je opisano akutno bubrežno oštećenje kod jedne osobe, koje je nastalo, kao posledica konzumiranja tri tablete ekstazija na reju zabavi. Kod ovog slučaja akutno bubrežno oštećenje je nastalo usled diseminovane intravaskularne koagulacije (DIK) i netraumatske rabdomiolize, kao posledice direktnog toksičnog dejstva ekstazija na mišićne ćelije (144). Akutna bubrežna insuficijencija, kao posledica zloupotrebe MDMA može nastati i usled netraumatske rabdomiolize, nekrotizujućeg vaskulitisa, opstruktivne uropatije usled krvarenja u vratu mokraćne bešike, maligne hipertenzije, disfunkcije proksimalnih tubula bubrega i hipovolemije (120, 122) Netraumatska rabdomioliza nastaje usled mišićne hiperaktivnosti ili

direktnog toksičnog dejstva MDMA na skeletne mišićne ćelije. Kod mnogih slučajeva u literaturi je opisano da neadekvatna hidratacija i hiperpireksija dovode do rabdomiolize (145).

Neki autori smatraju da hipertermija uzrokovana korišćenjem MDMA može da dovede do izmenjenog bubrežnog statusa (146, 147, 148). Lalich je u svom istraživanju ustanovio da dehidratacija i sekundarna hipertermija mogu da dovedu do oštećenja bubrega kod životinja (149). Burger i Fuhrman su u pokazali kako su tkiva životinja, uključujući koru bubrega podložni oštećenjima uzrokovanim hipertermijom (150).

U ovom istraživanju je ustanovljeno oštećenja bubrega pacova, koje je nastalo kao posledica dejstva MDMA, kao i povišene temperature sredine u kojoj su se nalazili u toku eksperimenta (151). Takođe je ustanovljeno oštećenje bubrega humanih kadavera umrlih usled trovanja MDMA.

Patohistološkom analizom uzoraka tkiva bubrega pacova i humanih kadavera ustanovljene su promene: venska kongestija, intersticijalni edem, reverzibilno oštećenje bubrežnih tubula, dilatacija bubrežnih tubula, epitelne ćelije u lumenu bubrežnih tubula, inflamatorni infiltrat, sadržaj u lumenu bubrežnih tubula, nekroza bubrežnih tubula i fibroblastna proliferacija (152, 153, 154, 155, 156, 157).

### **Venska kongestija**

Venska kongestija u bubrezima je ustanovljena kod pacova u svim grupama i sredinama, nezavisno od vremena žrtvovanja, osim u kontrolnoj grupi u sredini sa temperaturom 32°C žrtvovanih posle 8 sati. Najveći procenat zastupljenosti venske kongestije (87,5% - 100%) je kod pacova u eksperimentalnim grupama (20 mg/kg i 40 mg/kg MDMA) u svim sredinama, bez obzira na vreme žrtvovanja. U eksperimentalnim grupama procenat zastupljenosti venske kongestije je veći nego u kontrolnim grupama, osim kod pacova u kontrolnoj grupi u sredini sa temperaturom 32°C žrtvovanih posle 8 sati, gde je venska kongestija zastupljena kod svih pacova. Najveća zastupljenost venske kongestije kod pacova u eksperimentalnim grupama pokazuje da je nefrotoksičnost MDMA uticala na njen nastanak. Takođe temperatura sredine je bila značajan faktor za nastanak venske kongestije. U sredini sa većom temperaturom ona je bila prisutna u bubrezima kod većeg broja pacova. Vreme žrtvovanja pacova (dužina izloženosti dejstvu MDMA) nije uticala na zastupljenost venske kongestije u bubrezima pacova (158).

### **Intersticijalni edem**

Intersticijalni edem u bubrezima je ustanovljen kod pacova u svim grupama i sredinama nezavisno od vremena žrtvovanja, osim u kontrolnoj grupi u sredini sa temperaturom 12°C žrtvovanih posle 8 sati. Najveći procenat zastupljenosti intersticijalnog edema (50% - 100%) je kod pacova u eksperimentalnim grupama u svim sredinama, bez obzira na vreme žrtvovanja. U eksperimentalnim grupama procenat zastupljenosti intersticijalnog edema je veći nego u kontrolnim grupama, osim kod pacova u kontrolnoj grupi u sredini sa temperaturom 32°C



žrtvovanih posle 24 sati, gde je intersticijalni edem zastupljen kod svih pacova. Morfometrijska analiza površina intersticijalnog edema pokazuje da su one statistički značajno veće kod pacova u eksperimentalnim grupama nego u kontrolnim grupama. Najveća zastupljenost intersticijalnog edema kod pacova u eksperimentalnim grupama pokazuje da je nefrotoksičnost MDMA uticala na njegov nastanak. Temperatura sredine je bila značajna za nastanak intersticijalnog edema. U sredini sa većom temperaturom on je bio prisutan u bubrezima kod većeg broja pacova. Vreme žrtvovanja pacova (dužina izloženosti dejstvu MDMA) je uticala na zastupljenost intersticijalnog edema u bubrezima pacova. Intersticijalni edem je bio zastupljeniji kod pacova u kontrolnim i eksperimentalnim grupama koji su žrtvovani posle 24 sata od početka eksperimenta (158, 159).

### **Reverzibilno oštećenje bubrežnih tubula**

Reverzibilno oštećenje bubrežnih tubula je ustanovljeno kod pacova u svim grupama i sredinama bez obzira na vreme žrtvovanja, osim u kontrolnim grupama u sredinama sa temperaturama 12°C i 22°C žrtvovanih posle 8 sati i u sredini sa temperaturom 12°C žrtvovanih posle 24 sata. Najveći procenat zastupljenosti reverzibilnog oštećenja bubrežnih tubula (62,5% - 100%) je kod pacova u eksperimentalnim grupama u svim sredinama, bez obzira na vreme žrtvovanja. U eksperimentalnim grupama zastupljenost reverzibilnog oštećenja bubrežnih tubula je veće nego u kontrolnim grupama, osim kod pacova u kontrolnoj grupi u sredini sa temperaturom 32°C žrtvovanih posle 24 sati, gde je reverzibilno oštećenje bubrežnih tubula prisutno kod svih pacova. Najveća zastupljenost ove patohistološke promene kod pacova u eksperimentalnim grupama pokazuje da je nefrotoksičnost MDMA uticala na njen nastanak. Temperatura sredine je bila značajna za nastanak reverzibilnog oštećenja bubrežnih tubula. U sredini sa većom temperaturom ona je bila prisutna u bubrezima kod većeg broja pacova. Vreme žrtvovanja pacova (dužina izloženosti dejstvu MDMA) je uticala na zastupljenost ove patohistološke promene u bubrezima pacova. Reverzibilno oštećenje bubrežnih tubula je zastupljenije kod pacova u kontrolnim i eksperimentalnim grupama koji su žrtvovani posle 24 sata od početka eksperimenta (159).

### **Dilatacija bubrežnih tubula**

Dilatacija bubrežnih tubula je ustanovljena kod pacova u svim grupama i sredinama bez obzira na vreme žrtvovanja, osim u kontrolnoj i eksperimentalnim grupama u sredini sa temperaturom 12°C i u kontrolnoj grupi u sredini sa temperaturom 22°C žrtvovanih posle 8 sata. Veća zastupljenost dilatacije bubrežnih tubula je u eksperimentalnim grupama nego u kontrolnim grupama pacova u svim sredinama, bez obzira na vreme žrtvovanja. Najveći procenat zastupljenosti dilatacije bubrežnih tubula (100%) je kod pacova u sredini sa temperaturom 32°C. Takođe veća zastupljenost ove patohistološke promene je kod pacova u eksperimentalnim grupama (40 mg/kg MDMA), nego u eksperimentalnim grupama (20 mg/kg MDMA). Zastupljenost dilatacije bubrežnih tubula je zavisila od vremena žrtvovanja pacova (dužine izloženosti dejstvu MDMA). Dilatacija bubrežnih tubula je prisutnija kod pacova koji su žrtvovani posle 24 sata od početka eksperimenta (160).

### **Epitelne ćelije u lumenu bubrežnih tubula**

Epitelne ćelije u lumenu bubrežnih tubula su ustanovljene kod pacova u svim grupama i sredinama nezavisno od vremena žrtvovanja, osim u kontrolnim i eksperimentalnim grupama u sredinama sa temperaturama 12°C i 22°C žrtvovanih posle 8 i 24 sata. Veća zastupljenost epitelnih ćelija u lumenu bubrežnih tubula je u eksperimentalnim grupama nego u kontrolnim grupama pacova u svim sredinama, bez obzira na vreme žrtvovanja. Najveći procenat zastupljenosti dilatacije bubrežnih tubula (37,5% - 87,5%) je kod pacova u sredini sa temperaturom 32°C. Veća zastupljenost ove patohistološke promene je kod pacova u eksperimentalnim grupama (40 mg/kg MDMA), nego kod pacova u eksperimentalnim grupama (20 mg/kg MDMA). Na zastupljenost epitelnih ćelija u lumenu bubrežnih tubula je uticalo i vreme žrtvovanja pacova (dužina izloženosti dejstvu MDMA), tako što su prisutnije bile kod pacova koji su žrtvovani posle 24 sata od početka eksperimenta. Epitelne ćelije bubrežnih tubula su jako podložne oštećenju, zato što su meta dejstva mnogih toksičnih supstanci, koje ometaju oksidativne i druge metaboličke procese u njima (161).

### **Inflamatorni infiltrat**

Inflamatorni infiltrat je ustanovljen kod pacova u eksperimentalnim grupama (40 mg/kg MDMA) u sredini sa temperaturama 22°C i 32°C žrtvovanih posle 8 i 24 sata u kontrolnoj grupi u sredini sa temperaturom 32°C žrtvovanih posle 24 sata. Najveći procenat zastupljenosti inflamatornog infiltrata (25%) je kod pacova u eksperimentalnoj grupi (20 mg/kg MDMA) u sredini sa temperaturom 32°C žrtvovanih posle 24 sata. Prisustvo ove patohistološke promene u bubrežima pacova nije zavisilo od aplikovane doze MDMA, a zavisilo je od temperature sredine i vremena žrtvovanja (dužine izloženosti dejstvu MDMA) (161).

### **Sadržaj u lumenu bubrežnih tubula**

Sadržaj u lumenu bubrežnih tubula je ustanovljen kod pacova u eksperimentalnim grupama (40 mg/kg MDMA) u sredinama sa temperaturama 22°C i 32°C žrtvovanih posle 8 i 24 sata i u eksperimentalnoj grupi (20 mg/kg MDMA) u sredini sa temperaturom 32°C žrtvovanih posle 8 sati. U ostalim grupama pacovi nisu imali ovu patohistološku promenu u bubrežima. Najveći procenat zastupljenosti sadržaja u lumenu bubrežnih tubula (75%) je kod pacova u eksperimentalnoj grupi (40 mg/kg MDMA) u sredini sa temperaturom 32°C žrtvovanih posle 8 sati. U sredinama sa višom temperaturom, kao i kod pacova kojima je aplikovana veća doza MDMA sadržaj u lumenu bubrežnih tubula je bio zastupljeniji (162, 163).

### **Nekroza bubrežnih tubula**

Nekroza bubrežnih tubula je ustanovljena kod pacova u eksperimentalnim grupama (40 mg/kg MDMA) u sredini sa temperaturom 22°C žrtvovanih posle 8 i 24 sata i u kontrolnim i eksperimentalnim grupama u sredini sa temperaturom 32°C žrtvovanih posle 8 i 24 sata. Veći procenat zastupljenosti nekroze bubrežnih tubula je kod pacova u eksperimentalnim grupama (40 mg/kg MDMA) u sredini sa temperaturom 32°C, nego u sredini sa temperaturom 22°C. Vreme

žrtvovanja (dužina izloženosti dejstvu MDMA) nije imalo značajan uticaj na procenat zastupljenosti ove patohistološke promene.

Nekroza bubrežnih tubula je oštećenje bubrega, koje nastaje usled oslabljene funkcija tubularnog epitela izazvana ishemijom ili dejstvom toksičnih supstanci. Nefrotoksična nekroza bubrežnih tubula nastaje kada egzogene supstance dovedu do oštećenja tubula, prvenstveno direktnim toksičnim efektima ili poremećajem intrarenalne hemodinamike, kao i kombinacijom ovih faktora (164, 165).

### **Fibroblastna proliferacija**

Fibroblastna proliferacija je ustanovljena kod pacova eksperimentalnim grupama (20 mg/kg MDMA) u sredinama sa temperaturama 22°C i 32°C žrtvovanih posle 8 i 24 sata, dok u sredini sa temperature 12°C nije bila prisutna ni u jednoj grupi. Procenat zastupljenosti fibroblastne proliferacije (12%) je bio isti kod pacova u svim grupama, osim kod pacova u eksperimentalnoj grupi (20 mg/kg MDMA) u sredini sa temperaturom 22°C žrtvovanih posle 24 sata, gde je procenat zastupljenosti fibroblastne proliferacije 25%. Ova patohistološka promena nije pokazivala zavisnost od aplikovane doze MDMA, kao ni od temperature sredine i vremena žrtvovanja (dužina izloženosti dejstvu MDMA) (166).

Ovim istraživanjem je ustanovljeno da je toksično oštećenje bubrega, nastalo kao posledica dejstva MDMA izraženije kod pacova, koji su se nalazili u sredinama sa višom temperaturom. Najveće oštećenje bubrega je bilo kod pacova, koji su se nalazili u sredini sa temperaturom 32°C. Ovi pacovi su imali najizraženije patohistološke promene, što je u skladu sa dosadašnjim istraživanjima (152).

Osawa i saradnici i Jorgensen u svojim istraživanjima su prikazali rezultate biopsija u kojima se opisuje više patohistoloških promena u bubrežima nastalih kao posledica korišćenja MDMA, kao što su: degeneracija tubula i nekroza, intersticijalni edem, krvarenje, okluzija malih krvnih sudova i infiltracija leukocita u bubrežnoj meduli. Glomeruli bubrega su bili najviše oštećeni, što se manifestovalo delimičnim ili potpunim infarktom, oštećenjem bazalne membrane, poremećajem funkcije ćelijskih organela, vakuolizacijom citoplazme i degeneracijom luminalnih mikrovila (167, 168).

Pored temperature sredine u kojoj su se pacovi nalazili na oštećenje bubrega je značajan uticaj imala i aplikovana doza MDMA. Pacovi u eksperimentalnoj grupi (40 mg/kg MDMA) su imali izraženije patohistološke promene od pacova u eksperimentalnoj grupi (20 mg/kg MDMA), što je i ustanovljeno morfometrijskom analizom patohistoloških promena.

U literaturi su opisani brojni slučajevi nefrotoksičnog efekta ekstazija. Brojni pokazatelji bubrežne funkcije su korišćeni za pregled u istraživanju, koje je uključivalo 43 slučaja u kojima je rekreativna upotreba ekstazija dovela do nekog oblika medicinske intervencije. Kod većina ovih slučajeva postojalo je nekoliko znakova oštećenja bubrežne funkcije. Glavni klinički pokazatelji

su bili: hipertermija, hiperkaliemija, hiponatriemija, hipokalcijemija, povećane vrednosti BUN, kreatinina i CK, rabdomioliza, mioglobinurija, diseminovana intravaskularna koagulacija (DIK), oligurija acidoza i akutna bubrežna insuficijencija. Zanimljivo je da svi opisani znaci i simptomi direktno odgovaraju komplikacijama povezanim sa toplotnim stresom i povećanom fizičkom aktivnošću (169).

### 6.3. BIOHEMIJSKI PARAMETRI U KRVI PACOVA I HUMANIH KADAVERA

Poremećaj bubrežne funkcije usled oštećenja bubrega, nastalo kao posledica dejstva MDMA je praćeno promenama vrednosti biohemijskih parametara u krvi - glukoze, kreatinina, elektrolita (natrijum, kalijum) i serumskih enzima (aspartat aminotransferase - AST, alanin aminotransferase - ALT, laktat dehidrogenaze - LDH, gama glutamiltransferaze - GGT, kreatin kinaze - CK) (170, 171).

U ovom istraživanju su analizirane vrednosti biohemijskih parametara (glukoza, BUN, osmolalitet, kreatinin, kalcijum, natrijum, kalijum hlor, AST, CK i LDH) u krvi pacova, koji su se nalazili u komorama sa temperaturama vazduha 12°C, 22°C i 32°C, gde su im aplikovane doze 20 mg/kg i 40 mg/kg MDMA i žrtvovani posle 8 i 24 sata nakon početka eksperimenta. Vrednosti navedenih biohemijskih parametara u krvi su analizirane i kod humanih kadavera umrlih usled trovanja MDMA.

#### Glukoza

Vrednosti glukoze u krvi pacova u sredinama sa temperaturama 12°C, 22°C i 32°C, žrtvovanih posle 8 sati i u sredinama sa temperaturama 22°C i 32°C žrtvovanih posle 24 sata su statistički značajno veće u eksperimentalnim grupama u odnosu na kontrolne grupe. Kod pacova u eksperimentalnim grupama (40 mg/kg MDMA) vrednosti glukoze u krvi su statistički značajno veće u odnosu na eksperimentalne grupe (20 mg/kg MDMA). Analizom vrednosti glukoze u krvi pacova u eksperimentalnim grupama, bez obzira na dozu MDMA, u toku prvih 8 sati eksperimenta ustanovljeno je da se one smanjuju u odnosu na kontrolnu grupu u svim sredinama. Vrednosti glukoze u krvi se povećavaju sa porastom temperature sredine. Kod pacova koji su žrtvovani posle 24 sata od početka eksperimenta vrednosti glukoze u krvi se povećavaju i dostižu vrednosti koje imaju pacovi u kontrolnim grupama u svim sredinama.

Vrednosti glukoze u krvi kod tri humana kadavera su bile u granicama referentnih vrednosti, kod tri su bile manje, a kod dva veće u odnosu na referentne vrednosti (172).

Teška perzistentna hipoglikemija sa endogenom hiperinsulinemijom usled intoksikacije ekstazijem kod ljudi ranije nije mnogo opisivana u literaturi. U literaturi postoje prikazi slučajeva, koji opisuju hipoglikemiju, koja je nastala nakon konzumiranja MDMA (172, 173). Ove vrednosti

glukoze u krvi idu u prilog razmišljanju, da je došlo do mobilizacije glukoze iz glikogenih rezervi u organizmu. Stimulacija simpatičkog nervnog sistema, što je efekat amfetaminskih derivata, pojačava intenzitet metabolizma gotovo u svim tkivima. Oslobođeni adrenalin i noradrenalin deluju direktno na ćelije izazivajući glikogenolizu. Postoje podaci iz istraživanja na pacovima, u kome je opisan akutni efekat MDMA na glikemiju, gde se koncentracija glukoze u krvi u eksperimentalnoj grupi u odnosu na kontrolnu grupu smanjila za čak  $54,4 \pm 25,3$  mg/dl za jedan sat nakon jedne doze MDMA (171).

Na temperaturama ispod  $17^{\circ}\text{C}$  više se aktivira simpatički nervni sistem da bi pomogao u održavanju telesne temperature tela, a iznad  $30^{\circ}\text{C}$  znojenje pojačava intenzitet metabolizma. Glukostatička teorija regulacije gladi smatra da je smanjenje koncentracije glukoze u krvi u vezi sa nastankom gladi. Kada se vrednost glukoze u krvi suviše smanji, to uzrokuje da se životinja intenzivnije hrani i vrednost glukoze u krvi se opet vraća na normalni nivo. Međutim u ovom eksperimentu, kod pacova, kojima je aplikovan MDMA se to nije dešavalo u prvih 12 sati. Vrednosti glukoze u krvi pacova, koji nisu uzimali hranu su se smanjivale, što je uticalo na stimulaciju centra za glad. Centar za glad je blokiran dejstvom MDMA i reaguje na mnogo manju vrednost glikemije nego kada nije blokiran. Porast vrednosti glukoze u krvi kod pacova, koji su žrtvovani posle 24 sata nastao je kao rezultat toga što pacovi posle 12 sati počinju da uzimaju hranu, a takođe dolazi i do mobilizacije glikogena iz rezervi u organizmu (170).

### **Urea nitrat - BUN**

Vrednosti BUN u krvi pacova u sredinama sa temperaturama  $12^{\circ}\text{C}$  i  $32^{\circ}\text{C}$  žrtvovanih posle 8 sati i u sredini sa temperaturom  $32^{\circ}\text{C}$  žrtvovanih posle 24 sata su statistički značajno veće u eksperimentalnim grupama u odnosu na kontrolne grupe. Pacovi u eksperimentalnim grupama ( $40$  mg/kg MDMA) imali su statistički značajno veće vrednosti BUN u krvi u odnosu na pacove u eksperimentalnim grupama ( $20$  mg/kg MDMA). Vrednosti BUN u krvi kod pacova u sredinama sa temperaturama  $12^{\circ}\text{C}$ ,  $22^{\circ}\text{C}$  i  $32^{\circ}\text{C}$  u kontrolnim i eksperimentalnim grupama su bile u granicama referentnih vrednosti ili malo povišene, kod pojedinih pacova. Ove vrednosti su se povećavale u zavisnosti od vremena žrtvovanja, pa su kod pacova, koji su žrtvovani nakon 24 sata bile više.

Vrednosti BUN u krvi kod jednog humanog kadavera je bila niža, a kod sedam je bila viša u odnosu na referentne vrednosti (174, 175).

Porast koncentracije BUN u krvi može biti indikator smanjene perfuzije bubrega u stanjima šoka ili dehidracije, akutnog ili hroničnog oštećenja bubrega ili opstrukcije mokraćnih puteva (176). Pacovi su usled povišene telesne temperature i hiperaktivnosti bili u stanju dehidracije. Akutna bubrežna insuficijencija, kao posledica dejstva MDMA je dovela do nakupljanja azotnih materija u krvi i porast vrednosti BUN (177).

### **Osmolalitet**

Vrednosti osmolaliteta krvi pacova u sredini sa temperaturom 12°C žrtvovanih posle 24 sata i u sredinama sa temperaturama 22°C i 32°C žrtvovanih posle 8 i 24 su statistički značajno veće u eksperimentalnim grupama u odnosu na kontrolne grupe. Pacovi u eksperimentalnim grupama (40 mg/kg MDMA) imali su statistički značajno veće vrednosti osmolaliteta krvi u odnosu na pacove u eksperimentalnim grupama (20 mg/kg MDMA). Vrednosti osmolaliteta u krvi pacova u svim sredinama, bez obzira na vreme žrtvovanja i aplikovanu dozu MDMA su bile više od referentnih vrednosti.

Vrednost osmolaliteta krvi kod šest humanih kadavera je bila u granicama referentnih vrednosti, kod jednog je bila niža i kod jednog viša u odnosu na referentne vrednosti.

Hipertermija indukuje stanje dehidracije, posebno u kombinaciji sa povišenim nivoom fizičke aktivnosti i neefikasnom nadoknadom tečnosti. To dovodi do niskog krvnog pritiska i visokog osmolaliteta krvi i zajedno sa hiponatremijom aktivira renin-angiotenzinski mehanizam (178).

### **Kreatinin**

Vrednosti kreatinina u krvi pacova u sredinama sa temperaturama 12°C, 22°C i 32°C žrtvovanih posle 8 sati i u sredini sa temperaturom 32°C žrtvovanih posle 24 sata su statistički značajno veće u eksperimentalnim grupama u odnosu na kontrolne grupe. Pacovi u eksperimentalnim grupama (40 mg/kg MDMA) imali su statistički značajno veće vrednosti kreatinina u krvi u odnosu na pacove u eksperimentalnim grupama (20 mg/kg MDMA). Vrednosti kreatinina u krvi kod pacova u svim sredinama, bez obzira na vreme žrtvovanja i aplikovanu dozu MDMA su bile povišene u odnosu na referentne vrednosti.

Vrednosti kreatinina u krvi kod jednog humanog kadavera je bila u granicama referentnih vrednosti, a kod sedam su bile povišene u odnosu na referentne vrednosti.

Rezultati dobijeni u ovom istraživanju vezani za vrednosti kreatinina u krvi pacova i humanih kadavera poakazuju da je kod većine njih bila prisutna akutna bubrežna insuficijencija indukovana intoksikacijom MDMA. Kreatinina je važan biohemijski parametar, koji govori o stanju bubrega i bubrežne funkcije (179). Povišene vrednosti kreatinina u krvi su značajan parametar, koji pokazuje da je došlo do oštećenja bubrežne funkcije i akutne bubrežne insuficijencije (180). Studije koje opisuju standardizaciju dijagnoze akutne bubrežne insuficijencije uzimaju povišene vrednosti kreatinina u serumu, kao značajne za dijagnostiku akutne bubrežne insuficijencije (181, 182, 183).

### **Kalcijum**

Vrednost kalcijuma u krvi pacova u sredini sa temperaturom 12°C žrtvovanih nakon 24 sata i u sredini sa temperaturom 22°C žrtvovanih posle 8 i 24 sata su statistički značajno veće u eksperimentalnim grupama u odnosu na kontrolne grupe. Pacovi u eksperimentalnim grupama (40

mg/kg MDMA) imali su statistički značajno veću vrednost kalcijuma u krvi u odnosu na pacove u eksperimentalnim grupama (20 mg/kg MDMA). Vrednosti koncentracije kalcijuma u krvi pacova u svim sredinama, bez obzira na vreme žrtvovanja i aplikovanu dozu MDMA je u granicama referentnih vrednosti, što se u ovom istraživanju razlikuje od podataka u literaturi (184).

Vrednosti kalcijuma u krvi kod dva humana kadavera je bila u granicama referentnih vrednosti, a kod šest su bile niže od referentnih vrednosti.

U nekim istraživanjima je ustanovljena hiperkalcemija, a u drugim hipokalcemija posle primene MDMA (185). U studiji koju su sprovedi Koeffler i saradnici, gde je bio uključen 21 ispitanik ustanovljena je hiperkalcemija u krvi, koja je nastala kao posledica rabdomiolize (186). Grossman i saradnici su u studiji u kojoj je bilo uključeno 15 ispitanika posmatranih u vremenskom periodu od tri godine ustanovili da je kod sedam ispitanika bila prisutna hipokalcemija, kod tri ispitanika hiperkalcemija u ranoj fazi rabdomiolize (187).

### **Natrijum**

Vrednosti natrijuma u krvi pacova u sredinama sa temperaturama 12°C, 22°C i 32°C, žrtvovanih posle 8 i 24 sata su statistički značajno veće u eksperimentalnim grupama u odnosu na kontrolne grupe. Pacovi u eksperimentalnim grupama (40 mg/kg MDMA) imali su statistički značajno veće vrednosti natrijuma u krvi u odnosu na pacove u eksperimentalnim grupama (20 mg/kg MDMA). Vrednosti natrijuma u krvi pacova u kontrolnim i eksperimentalnim grupama u svim sredinama, bez obzira na vreme žrtvovanja su bile u granicama referentnih vrednosti.

Vrednosti natrijuma u krvi kod tri humana kadavera su bile u granicama referentnih vrednosti, kod tri su bile niže, a kod dva više od referentnih vrednosti.

Patogeneza hiponatrijemije uzrokovane korišćenjem MDMA je multifaktorska (113). Nekoliko studija je pokazalo da MDMA ili njegovi metaboliti stimulišu lučenje antidiuretskog hormona (ADH) preko serotoninergičkih puteva (125). Gubitak hipotonične tečnosti znojenjem tokom povećane fizičke aktivnosti i povišene temperature su glavni faktori za nastanak hiponatrijemije. MDMA indukovana polidipsija može biti faktor koji doprinosi nastanku hiponatrijemije. Hipernatrijemija je uzrokovana smanjenjem zapremine ekstraćelijske tečnosti, koja je posledica intenzivnog znojenja usled hipertermije, dužeg fizičkog napora i euforije (113).

### **Kalijum**

Vrednosti kalijumu u krvi pacova u sredini sa temperaturama 12°C žrtvovanih posle 8 sati i u sredini sa temperaturom 32°C žrtvovanih posle 8 i 24 sata su statistički značajno veće u eksperimentalnim grupama u odnosu na kontrolne grupe. Pacovi u eksperimentalnim grupama (40 mg/kg MDMA) imali su statistički značajno veće vrednosti kalijuma u krvi u odnosu na pacove u eksperimentalnim grupama (20 mg/kg MDMA). Vrednosti kalijuma u krvi pacova žrtvovanih posle 8 sati u sredinama sa temperaturama 12°C i 22°C su kod pojedinih pacova u

eksperimentalnim grupama niže u odnosu na referentne vrednosti, a u sredini sa temperaturom 32°C su kod pojedinih pacova u eksperimentalnim grupama vrednosti kalijuma u krvi povišene u odnosu na referentne vrednosti. Kod pacova žrtvovanih posle 24 sata u svim sredinama vrednosti kalijuma u krvi je u granicama referentnih vrednosti, osim kod pojedinih pacova u eksperimentalnoj grupi (40 mg/kg MDMA) u sredini sa temperaturom 22°C, gde su vrednosti bile malo povišene u odnosu na referentne vrednosti.

Vrednosti kalijuma u krvi kod pet humanih kadavera su bile u granicama referentnih vrednosti, kod dva su bile niže, a kod jednog više u odnosu na referentne vrednosti.

Hiperkaliemija nastaje usled izlaska intracelularnog kalijuma u krv, kao posledica akutnog bubrežnog oštećenja nastalog usled rabdomiolize (188, 189, 190, 191). Kod akutne nekroze bubrežnih tubula, tubuli su oštećeni i nisu u mogućnosti da ekskretuju kalijum, što dovodi do smanjenja bubrežne ekskrecije kalijuma i hiperkalijemije. Hiperkalijemija je opasno stanje u ljudskom organizmu. Povišen nivo kalijuma u serumu može da izazove fatalne srčane aritmije (187).

### **Hlor**

Vrednosti hlora u krvi pacova u sredinama sa temperaturama 12°C i 32°C žrtvovanih posle 8 i 24 sata i u sredini sa temperaturom 22°C žrtvovanih posle 8 sati statistički značajno su veće u eksperimentalnim grupama u odnosu na kontrolne grupe. Pacovi u eksperimentalnim grupama (40 mg/kg MDMA) imali su statistički značajno veću vrednost hlora u krvi u odnosu na pacove u eksperimentalnim grupama (20 mg/kg MDMA). Vrednosti hlora u krvi pacova žrtvovanih posle 8 sati u sredinama sa temperaturama 12°C, 22°C i 32°C u kontrolnim i eksperimentalnim grupama (20 mg/kg MDMA) su u granicama referentnih vrednosti, a kod pacova u eksperimentalnim grupama (40 mg/kg MDMA) su povišene u odnosu na referentne vrednosti. Kod pacova žrtvovanih posle 24 sata u svim sredinama u eksperimentalnim grupama (20 mg/kg i 40 mg/kg MDMA) su vrednosti hlora u krvi više u odnosu na referentne vrednosti.

Vrednosti hlora u krvi kod pet humanih kadavera su bila u granicama referentnih vrednosti, a kod tri su bile niže u odnosu na referentne vrednosti.

Vrednosti koncentracije hlora u krvi koje su dobijene u ovom istraživanju su slične, kao i u nekim drugim istraživanjima. Klinger i sardnici su u svojoj studiji ustanovili da netraumatska rabdomioliza nastala kao posledica dejstva MDMA može da dovede do promene vrednosti hlora u krvi (192).

### **Aspartat aminotransferaza - AST**

Vrednosti AST u krvi pacova u sredini sa temperaturom 22°C žrtvovanih posle 8 sati i u sredini sa temperaturom 32°C žrtvovanih posle 8 i 24 sata su statistički značajno veće u eksperimentalnim grupama u odnosu na kontrolnu grupu. Pacovi u eksperimentalnim grupama (40



mg/kg MDMA) imali su statistički značajno veću vrednost AST u krvi u odnosu na pacove u eksperimentalnim grupama (20 mg/kg MDMA). U ovom istraživanju ustanovljen je porast vrednosti AST kod pacova u eksperimentalnim grupama u odnosu na kontrolne grupe u sredinama sa temperaturama 12°C, 22°C i 32°C, bez obzira na dozu MDMA. Porast vrednosti AST je najveća kod pacova u eksperimentalnoj grupi (40 mg/kg MDMA) u sredini sa temperaturom 32°C žrtvovanih posle 8 sati.

Vrednosti AST u krvi kod svih humanih kadavera su bile povišene u odnosu na referentne vrednosti.

U svim sredinama vrednost AST je viša kod pacova u eksperimentalnim grupama u odnosu na kontrolne grupe, ali je najizraženiji porast vrednosti AST u sredini sa temperaturom 32°C. Beitia i saradnici su u svojoj studiji ustanovili promene u aktivnosti AST i povećane vrednosti u serumu nakon aplikacije MDMA pacovima soja Wistar (193). AST i LDH su citoplazmatski enzimi ćelije. Kada dođe do oštećenja ćelija nekim agensom AST i LDH izlaze iz ćelije i ulaze u cirkulaciju, što se odražava povećanim vrednostima ovih enzima u krvi (194).

### **Kreatin kinaza - CK**

Vrednosti CK u krvi pacova u sredini sa temperaturom 22°C žrtvovanih posle 8 i 24 sata i u sredini sa temperaturom 32°C žrtvovanih posle 8 sati su statistički značajno veće u eksperimentalnim grupama u odnosu na kontrolnu grupu. Pacovi u eksperimentalnim grupama (40 mg/kg MDMA) imali su statistički značajno veće vrednosti CK u krvi u odnosu na pacove u eksperimentalnim grupama (20 mg/kg MDMA).

Vrednosti CK u krvi kod svih humanih kadavera su bile povišene u odnosu na referentne vrednosti (113).

CK je biohemijski parametar, koji je pokazatelj oštećenja mišićnih ćelija u organizmu. Povećane vrednosti CK u krvi ukazuju da je došlo do oštećenja mišićnih ćelija, koje može nastati na različite načine i dejstvom različitih agenasa (195). Rabdomioliza nastala kao posledica hipertermije organizma ili usled direktnog toksičnog dejstva MDMA je bila prisutna kod pacova i humanih kadavera i dovela je do povećanja vrednosti CK u krvi kod većine pacova i svih humanih kadavera. Rezultati dobijeni u ovom istraživanju, koji se odnose na povećane vrednosti CK u krvi su u skladu sa podacima iz drugih istraživanja, koja su se bavila rabdomiolizom uzrokovanom ekstazijem. Teixeira Gomes u istraživanju sprovedenom na pacovima soja Wistar opisuje povećane vrednosti CK u krvi kod pacova kojima je aplikovan MDMA (21). Feio-Azevado i saradnici u istraživanju sprovedenom na pacovima soja Wistar, kojima su aplikovane doze 5 mg/kg MDMA su ustanovili da pored toksičnog oštećenja srca, jetre, bubrega dolazi i do promene vrednosti biohemijskih parametara u krvi. CK je bio jedan od parametara čije vrednosti u krvi su bile povećane (151). U istraživanju koje je sprovedeno na pacovima, gde je ispitivana toksičnost MDMA i patohistološke promene na organima ustanovljena je i povećana vrednost CK u krvi (152).

### Laktat dehidrogenaza - LDH

Vrednosti LDH u krvi pacova u sredini sa temperaturom 22°C žrtvovanih posle 8 i 24 sata i u sredini sa temperaturom 32°C žrtvovanih posle 8 sati su statistički značajno veće kod pacova u eksperimentalnim grupama u odnosu na kontrolne grupe. Pacovi u eksperimentalnim (40 mg/kg MDMA) imali su statistički značajno veće vrednosti LDH u krvi u odnosu na pacove u eksperimentalnim grupama (20 mg/kg MDMA).

Ustanovljene su povećane vrednosti LDH i CK u krvi pacova u kontrolnim grupama, koji su žrtvovani posle 24 sata, kao i kod pacova u eksperimentalnim grupama, koji su žrtvovani posle 8 i 24 sata u sredini sa temperaturom 32°C. MDMA direktnim toksičnim dejstvom na ćelije uslovljava porast enzimske aktivnosti. Povećanje telesna temperatura takođe utiče na povećane vrednosti LDH i CK u krvi. Enzimske reakcije su veoma osetljive na promenu telesne temperature. Utvrđeno je da pri porastu telesne temperature za 10°C dolazi do povećanja katalitičke aktivnosti enzima za oko 10% (195, 196, 197).

Vrednosti LDH u krvi kod jednog humanog kadavera je bila u granicama referentnih vrednosti, a kod sedam su bile povišene u odnosu na referentne vrednosti (198).

Prisustvo mišićnih enzima u krvi ukazuje na oštećenje mišićnih ćelija. To se pre svega odnosi na CK, AST i LDH, koji se u velikoj koncentraciji nalaze u mišićima i shodno tome, u slučaju većih oštećenja mišićnih ćelija lako dospevaju u krv (199).

Rabdomioliza je hiperkataboličko stanje, koje se se karakteriše masivnim raspadanjem mišićnih ćelija. Mišićne ćelije sadrže različite proteine, enzime i elektrolite uključujući: glikogen, mioglobin, kreatinin kinazu, kalijum i fosfat (200). Kada je mišićna ćelija oštećena, natrijum, kalcijum i voda iz ekstraćelijske tečnosti ulaze u ćeliju dok mioglobin, kreatinin kinaza i kalijum izlaze iz ćelije. Ova razmena enzima, proteina i elektrolita kroz ćelijsku membranu stvara hiperkalijemiju, hiponatrijemiju, hipokalcijemiju i povišen nivo CK u krvi, koje se mogu videti kod korisnika MDMA (201).

Nakon pažljive i kritičke procene svih dostupnih podataka iz literature, može se zaključiti da MDMA pokazuje nefrotoksični efekat. Za oštećenje bubrežne funkcije, koje nastaje kao posledica korišćenja MDMA je zaslužno više faktora. MDMA indukovana hiperpireksija, koja se povećava usled visoke temperature sredine, gužva, glasna muzika, upotreba alkohola i lekova, neunošenje dovoljno tečnosti i povećanje fizičke aktivnosti može da dovede do oštećenja bubrežne funkcije. Genetska osetljivost pojedinaca na MDMA i nečistoća uličnih tableta ekstazija povećava toksičnost MDMA, što se može odraziti na teže oštećenje bubrežne funkcije i nastanak akutne bubrežne insuficijencije, koja može dovesti do fatalnog ishoda (202, 203, 204).

## 7. ZAKLJUČCI

Na osnovu postavljenih ciljeva i hipoteza i dobijenih rezultata istraživanja mogu se izvesti sledeći zaključci:

1. Patohistološke promene u bubrezima pacova, koje su nastale kao posledica dejstva 3,4-metilendioksimetamfetamina su: venska kongestija, intersticijalni edem, reverzibilno oštećenje bubrežnih tubula, dilatacija bubrežnih tubula, epitelne ćelije u lumenu bubrežnih tubula, inflamatorni infiltrat, sadržaj u lumenu bubrežnih tubula, nekroza bubrežnih tubula i fibroblastna proliferacija.
2. Morfometrijski analizirane površine intersticijalnog edema u bubrezima pacova žrtvovanih posle 8 sati:
  - u eksperimentalnoj grupi (40 mg/kg MDMA) su statistički značajno veće u odnosu na eksperimentalnu grupu (20 mg/kg MDMA) u sredini sa temperaturom 12°C
  - u kontrolnoj grupi su statistički značajno manje u odnosu na eksperimentalne grupe (20 mg/kg MDMA i 40 mg/kg MDMA) u sredini sa temperaturom 22°C
  - u eksperimentalnim grupama (20 mg/kg i 40 mg/kg MDMA) su statistički značajno veće u odnosu na kontrolnu grupu
  - između eksperimentalnih grupa (20 mg/kg i 40 mg/kg MDMA) nije postojala statistički značajna razlika u sredinama sa temperaturama 22°C i 32°C

Morfometrijski analizirane površine intersticijalnog edema u bubrezima pacova žrtvovanih posle 24 sata:

- u eksperimentalnoj grupi (40 mg/kg MDMA) su statistički značajno veće u odnosu na eksperimentalnu grupu (20 mg/kg MDMA) u sredini sa temperaturom 12°C
- između kontrolne grupe i eksperimentalnih grupa (20 mg/kg i 40 mg/kg MDMA) ne postoji statistički značajna razlika u sredini sa temperaturom 12°C
- u eksperimentalnim grupama (20 mg/kg i 40 mg/kg MDMA) su statistički značajno veće u odnosu na kontrolnu grupu u sredini sa temperaturama 22°C i 32°C
- između eksperimentalnih grupa (20 mg/kg i 40 mg/kg MDMA) ne postoji statistički značajna razlika u sredini sa temperaturom 22°C i 32°C

Morfometrijski analizirane površine nekroze bubrežnih tubula pacova u sredini sa temperaturom 32°C žrtvovanih posle 8 sati u eksperimentalnoj grupi (40 mg/kg MDMA) su statistički značajno veće u odnosu na eksperimentalnu grupu (20 mg/kg MDMA).

Ne postoji statistički značajna razlika između morfološki analiziranih površina nekroze bubrežnih tubula u eksperimentalnim grupama (20 mg/kg i 40 mg/kg MDMA) kod pacova u sredini sa temperaturom 32°C žrtvovanih posle 24 sata.

3. Vrednosti biohemijjskih parametara u krvi pacova u sredini sa temperaturom 12°C žrtvovanih posle 8 sati:

- u kontrolnoj grupi srednja vrednost glukoze u krvi je statistički značajno veća u odnosu na eksperimentalne grupe (20 mg/kg i 40 mg/kg MDMA)
- u eksperimentalnoj grupi (40 mg/kg MDMA) srednje vrednosti BUN, kreatinin, natrijuma, kalijuma i hlora u krvi su statistički značajno veće u odnosu na kontrolnu grupu i eksperimentalnu grupu (20 mg/kg MDMA)

Vrednosti biohemijjskih parametara u krvi pacova u sredini sa temperaturom 12°C žrtvovanih posle 24 sata:

- u kontrolnoj grupi srednja vrednost osmolaliteta u krvi je statistički značajno veća u odnosu na eksperimentalne grupe (MDMA od 20 mg/kg i 40 mg/kg)
- u eksperimentalnoj grupi (20 mg/kg MDMA) srednja vrednost kalcijuma u krvi je bila statistički značajno veća u odnosu na kontrolnu grupu i eksperimentalnu grupu (40 mg/kg MDMA)
- u eksperimentalnoj grupi (40 mg/kg MDMA) srednje vrednosti natrijuma i hlora u krvi su statistički značajno veće u odnosu na kontrolnu grupu i eksperimentalnu grupu (20 mg/kg MDMA)

Vrednosti biohemijjskih parametara u krvi pacova u sredini sa temperaturom 22°C žrtvovanih posle 8 sati:

- u kontrolnoj grupi srednje vrednosti glukoze, osmolaliteta i kalcijuma u krvi su statistički značajno veće u odnosu na eksperimentalne grupe (20 mg/kg i 40 mg/kg MDMA)
- u eksperimentalnoj grupi (40 mg/kg MDMA) srednje vrednosti kreatinina natrijuma hlora AST, CK i LDH u krvi su statistički značajno veće u odnosu na kontrolnu grupu i eksperimentalnu grupu (20 mg/kg MDMA).

Vrednosti biohemijjskih parametara u krvi pacova u sredini sa temperaturom 22°C žrtvovanih posle 24 sata:

- u kontrolnoj grupi srednja vrednost natrijuma u krvi je bila statistički značajno veća u odnosu na eksperimentalne grupe (20 mg/kg i 40 mg/kg MDMA)
- u eksperimentalnoj grupi (20 mg/kg MDMA) srednje vrednosti glukoze i osmolaliteta su statistički značajno veće u odnosu na kontrolnu grupu i eksperimentalnu grupu (40 mg/kg MDMA)

- u eksperimentalnoj grupi (40 mg/kg MDMA) srednja vrednost kalcijuma je statistički značajno niža u odnosu na kontrolnu grupu i eksperimentalnu grupu (20 mg/kg MDMA)
- u eksperimentalnoj grupi (40 mg/kg MDMA) srednje vrednosti CK i LDH u krvi su statistički značano veće u odnosu na kontrolnu grupu i eksperimentalnu grupu (20 mg/kg MDMA)

Vrednosti biohemijskih parametara u krvi pacova u sredini sa temperaturom 32°C žrtvovanih posle 8 sati:

- u eksperimentalnoj grupi (40 mg/kg MDMA) srednje vrednosti BUN, osmolaliteta, kreatinina, natrijuma, kalijuma, hlora), AST, CK i LDH u krvi su statistički značajno veće u odnosu na kontrolnu grupu i eksperimentalnu grupu (20 mg/kg MDMA)
- u eksperimentalnoj grupi (20 mg/kg MDMA) srednja vrednost glukoze je statistički značajno niža u odnosu na kontrolnu grupu i eksperimentalnu grupu (40 mg/kg MDMA)

Vrednosti biohemijskih parametara u krvi pacova u sredini sa temperaturom 32°C kod pacova žrtvovanih posle 24 sata:

- u kontrolnoj grupi srednja vrednost kalijuma u krvi je statistički značajno veća u odnosu na eksperimentalne grupe (20 mg/kg i 40 mg/kg MDMA)
- u eksperimentalnoj grupi (20 mg/kg MDMA) srednje vrednosti glukoze, kreatinina i BUN u krvi su statistički značajno veće u odnosu na kontrolnu grupu i eksperimentalnu grupu (40 mg/kg MDMA)
- u eksperimentalnoj grupi (40 mg/kg MDMA) srednje vrednosti osmolaliteta, natrijuma, hlora i AST u krvi su statistički značajno veće u odnosu na kontrolnu grupu i eksperimentalnu grupu (20 mg/kg MDMA)

4. Veće vrednosti biohemijskih parametara u krvi pacova su kod pacova koji su imali veći broj patohistoloških promena u bubrežima.

Vrednosti aspartat aminotransferaze (AST) i kreatin kinaze (CK) u krvi pacova kod kojih je bila prisutna nekroza bubrežnih tubula su statistički značajno veće u odnosu na pacove kod kojih nije bila prisutna nekroza bubrežnih tubula.

5. Patohistološke promene u bubrežima humanih kadavera, koji su umrli usled trovanja 3,4-metilendioksimetamfetaminom su: venska kongestija, intersticijalni edem, reverzibilno oštećenje bubrežnih tubula, dilatacija bubrežnih tubula, epitelne ćelije u lumenu bubrežnih

tubula, inflamatorni infiltrat, sadržaj u lumenu bubrežnih tubula, nekroza bubrežnih tubula i fibroblastna proliferacija.

6. Ne postoji statistički značajna razlika između morfolometrijski analiziranih površina intersticijalnog edema kod pacova žrtvovanih posle 8 sati i humanih kadavera.

Morfometrijski analizirane površine intersticijalnog edema kod humanih kadavera su statistički značajno veće u odnosu na eksperimentalne grupe pacova (20 mg/kg i 40 mg/kg MDMA) žrtvovanih posle 24 sata.

Ne postoji statistički značajna razlika između morfolometrijski analiziranih površina nekroze bubrežnih tubula kod pacova žrtvovanih posle 8 sati i humanih kadavera.

Ne postoji statistički značajna razlika između morfolometrijski analiziranih površina nekroze bubrežnih tubula kod pacova žrtvovanih posle 24 sata i humanih kadavera.

---

## 8. LITERATURA

1. World Health Organization. Neuroscience of psychoactive substance use and dependence. Geneva: WHO Library; 2004.
2. United Nations Office on Drugs and Crime. World Drug Report. Vienna: United Nations Publication; 2014.
3. Vučković N. Zavisnost od droga. Novi Sad: Futura; 2004. (Serbian)
4. Dragišić-Labaš S, Milić M. Bolesti zavisnosti kao bolesti društva, porodice i pojedinca. Sociologija 2007;49(1):31-43.
5. Drugs of abuse. New York: Marshall Cavendish Corporation; 2012.
6. European Monitoring Centre for Drugs and Drug Addiction. European Drug Report 2017: Trends and Developments. Luxembourg: Publications Office of the European Union; 2017. p. 104
7. Liakoni E, Dolder PC, Rentsch KM, Liechti ME. Presentations due to acute toxicity of psychoactive substances in an urban emergency department in Switzerland: a case series. BMC Pharmacology & Toxicology 2016;17:25.
8. Dines AM, Wood DM, Yates C, Heyerdahl F, Giraudon I, Sedefov R, et al. The European drug emergencies network (Euro-DEN) project a model for multi-center data collection on acute recreational drug toxicity. Clinical Toxicology 2015;53(7):647-8.
9. Feng LY, Battulga A, Han E, Chung H, Li JH. New psychoactive substances of natural origin: A brief review. J Food Drug Anal 2017;25(3):461-71.
10. Liechti M. Novel psychoactive substances (designer drugs): overview and pharmacology of modulators of monoamine signaling. Swiss Med Wkly 2015;145:w14043.
11. Hill SL, Thomas SH. Clinical toxicology of newer recreational drugs. Clin Toxicol (Phila) 2011;49:705-19.
12. Weaver MF, Hopper JA, Gunderson EW. Designer drugs 2015: assessment and management. Addict Sci Clin Pract 2015;10(1):8.
13. Carvalho M, Carmo H, Costa V, Capela J, Pontes H, et al. Toxicity of amphetamines: an update. Arch Toxicol 2012;86:1167-231.
14. Sulzer D, Sonders MS, Poulsen NW, Galli A. Mechanisms of neurotransmitter release by amphetamines: A review. Prog Neurobiol 2005;75:406-33.
15. Houck MM. Forensic chemistry. 1st ed. New York: Elsevier; 2015.

16. European Monitoring Centre for Drugs and Drug Addiction. European Drug Report: trends and developments. Lisbon: Publications Office of the European Union; 2014.
17. Kalix P. Catha edulis, a plant that has amphetamine effects. *Pharm World Sci* 1996;18:69-73.
18. Greene SL, Kerr F, Braitberg G. Review article: amphetamines and related drugs of abuse. *Emerg Med Australas*. 2008;20:391-402.
19. Pikula V, Denić K, Rusić B, Nešić V, Đorđević S. Abusing of amphetamine-type structure compounds. *MD-Medical Data* 2013;5(2):175-8. (Serbian)
20. Karch BS. Karch's pathology of drug abuse. 3rd ed. Boca Raton: CRC Press; 2001. p. 234-5.
21. Teixeira Gomes A. Brain and peripheral organ toxicity of "ecstasy" in adolescent rats in human relevant doses [dissertation]. Porto: University of Porto; 2014.
22. Taylor SB, Lewis C, Olive M. The neurocircuitry of illicit psychostimulant addiction: acute and chronic effects in humans. *Subst Abuse Rehabil* 2013;4:29-43.
23. Pizarro N, Ortuno J, Segura J, Farre M, Mas M, et al. Quantification of amphetamine plasma concentrations by gas chromatography coupled to mass spectrometry. *J Pharm Biomed Anal* 1999;21:739-47.
24. Denić K, Rusić B, Đorđević S, Krstić N, Rančić D, et al. Trovanje amfetaminima: postoji li specifična toksična koncentracija? Prikaz dva slučaja intoksikacije amfetaminom i „ecstasy“-ijem. *Med Data Rev* 2012;4(3):329-34. (Serbian)
25. Kraemer T, Maurer HH. Toxicokinetics of amphetamines: metabolism and toxicokinetic data of designer drugs, amphetamine, methamphetamine, and their N-alkyl derivatives. *Ther Drug Monit* 2002;24:277-89.
26. Carvalho F, Remiao F, Amado F, Domingues P, Correia AF, Bastos ML. d-Amphetamine interaction with glutathione in freshly isolated rat hepatocytes. *Chem Res Toxicol* 1996;9:1031-36.
27. Shiiyama S, Soejima-ohkuma T, Honda S, Kumagai Y, Cho AK, Yamad H, et al. Major role of the CYP2 lisozymes in deamination of amphetamine and benzphetamine: evidence for the quinidine-specific inhibition of the reactions catalysed by rabbit enzyme. *Xenobiotica* 1997;27(4):379-88.
28. Musshoff F. Illegal or legitimate use? Precursor compounds to amphetamine and methamphetamine. *Drug Metab Rev* 2000;32:15-44.
29. Turner A. What is the difference between Ecstasy and MDMA [dissertation]. Cambridge: Anglia Ruskin University; 2014.



30. Freudenmann RW, Oxler F, Bernschneider-Reif S. The origin of MDMA (ecstasy) revisited: the true story reconstructed from the original documents. *Addiction* 2006;101:1241-5.
31. Martim Marinheira Dias Sampaio Monteiro. MDMA-Assisted Psychotherapy for Posttraumatic Stress Disorder [dissertation]. Porto: Faculty of Medicine; 2019.
32. Parrott AC, Downey LA, Roberts CA, Montgomery C, Bruno R, Fox HC. Recreational 3,4-methylenedioxymethamphetamine or „ecstasy“: Current perspective and future research prospects. *J Psychopharmacol* 2017;31(8):959-66.
33. Pentney AR. An exploration of the history and controversies surrounding MDMA and MDA. *J Psychoactive drugs* 2001;33:213-21.
34. Check E. Psychedelic drug the ups and downs of ecstasy. *Nature* 2004;429:126-8.
35. Mithoefer MC, Wagner TM, Mithoefer AT, Jerome L, Doblin R. The safety and efficacy of  $\pm$ 3,4-methylenedioxymethamphetamine-assisted psychotherapy in subjects with chronic, treatment-resistant posttraumatic stress disorder: the first randomized controlled pilot study. *J Psychopharmacol* 2010;25:439-52.
36. Mithoefer MC, Wagner MT, Mithoefer AT, Jerome L, Martin SF, Yazar-Klosinski B, et al. Durability of improvement in post-traumatic stress disorder symptoms and absence of harmful effects or drug dependence after 3,4-methylenedioxymethamphetamine-assisted psychotherapy: a prospective long-term follow-up study. *J Psychopharmacol* 2013;27:28-39.
37. Ota'loria G, Grigsby J, Poulter B, Van Derveer JW III, Giron SG, Jerome L, et al. MDMA-assisted psychotherapy for treatment of chronic posttraumatic stress disorder: a randomized controlled trial. *J Psychopharmacol* 2018;32:1295-307.
38. Mithoefer MC, Mithoefer AT, Feduccia AA, Jerome L, Wagner M, Wymer J, et al. 3,4-Methylenedioxymethamphetamine (MDMA)-assisted psychotherapy for post-traumatic stress disorder in military veterans, firefighters, and police officers: a randomised, double-blind, dose-response, phase 2 clinical trial. *Lancet Psychiatry* 2018;5:486-97.
39. Thal BS, Lommen JJM. Current Perspective on MDMA Psychotherapy for Posttraumatic Stress Disorder. *J Contemp Psychother* 2018;48(2):99-108.
40. Amoroso T. The Psychopharmacology of  $\pm$ 3,4 Methylenedioxymethamphetamine and its Role in the Treatment of Posttraumatic Stress Disorder. *J psychoactive drugs* 2015;47(5):337-44.
41. Nutt DJ, King LA, Nichols DE. Effects of Schedule I drug laws on neuroscience research and treatment innovation. *Nature reviews Neuroscience* 2013;14(8):577-85.
42. Landry MJ. MDMA. A review of epidemiologic data. *J Psychoactive drugs* 2002;34:163-9.

43. United Nations Office on Drugs and Crime. World Drug Report. Vienna: United Nations Publication; 2016.
44. United Nations Office on Drugs and Crime. World Drug Report. Vienna: United Nations Publication; 2017.
45. Feduccia AA, Hamilton S, Yazar-Klosinski B, Emerson A, Mithoefer MC, Doblin R, et al. Methylenedioxyamphetamine (MDMA) in Psychiatry: Pros, Cons, and Suggestions. *Psychopharmacology (Berl.)* 2018;38(6):632-8.
46. Barceloux GD. Medical toxicology of drug abuse: synthesized chemical and psychoactive plants. 1st. ed. New Jersey: Wiley; 2012: p.127-8.
47. Moffat AC, Osseltin MD, Widdop B, editors. Clarke's analysis of drugs and poisons. 3rd ed. London: Pharmaceutical Press;2004.
48. Kolbrich EA, Goodwin RS, Gorelick DA, Hayes RJ, Stein EA, Huestis MA. Plasma pharmacokinetics of 3,4-methylenedioxyamphetamine after controlled oral administration to young adults. *Ther Drug Monit* 2008;30(3):320-32.
49. De le Torre R, Farre M, Ortuno J, Mas M, Brenneisen R, et al. Non-linear pharmacokinetics of MDMA („ecstasy“) in humans. *Br J Clin Pharmacol* 2000;49:104-9.
50. Mueller M, Kolbrich EA, Peters FT, Maurer HH, McCann UD, et al. Direct comparison of ( $\pm$ )3,4-Methylenedioxyamphetamine („Ecstasy“) disposition and metabolism in squirrel monkeys and humans. *Ther Drug Monit* 2009;31:367.
51. Farre M, De La Torre R, Mathuna BO, Roset P, Peiro A, et al. Repeated doses administration of MDMA in humans: pharmacological effects and pharmacokinetics. *Psychopharmacology (Berl)* 2004;173:364-75.
52. Pizarro N, Farre M, Pujadas M, Peiro AM, Roset PN, et al. Stereochemical analysis of 3,4-methylenedioxyamphetamine and its main metabolites in human samples including the catechol-type metabolite (3,4-dihydroxymethamphetamine). *Drug Metab Dispos* 224; 32:1001-7.
53. Schwaninger AE, Meyer MR, Barnes AJ, et al. Urinary excretion kinetics of 3,4-methylenedioxyamphetamine (MDMA, ecstasy) and its phase I and phase II metabolites in humans following controlled MDMA administration. *Clin Chem* 2011;57(12):1748-56.
54. Farre M, Papaseit E, De le Torre R. MDMA: Pharmacokinetics. In: Wolff K, White J, Karch S editors. *The SAGE handbook of Drug and Alcohol Studies*. 1st ed. London: SAGE publications Ltd; 2017:p.153-5.
55. Cho AK, Narimatsu S, Kumagai Y. Metabolism of drugs of abuse by cytochromes P450. *Addict Biol* 1999;4:283-301.

56. Easton N, Fry J, O'Shea E, Watkins A, Kingston S, Marsden CA. Synthesis in vitro formation and behavioural effects of glutathione regioisomers of alpha-methyldopamine with relevance to MDA and MDMA (ecstasy). *Brain Res* 2003;987:144-54.
57. Jones DC, Duvauchelle C, Ikegami A, Olsen CM, Lau SS, et al. Serotonergic neurotoxic metabolites of ecstasy identified in rat brain. *J Pharmacol Exp Ther* 2005;313: 422-31.
58. Mueller M, Maldonado-Adrian C, Yuan J, McCann UD, Ricaurte GA. Studies of ( $\pm$ )-3,4-methylenedioxyamphetamine (MDMA) metabolism and disposition in rats and mice: relationship to neuroprotection and neurotoxicity profile. *J Pharmacol Exp Ther* 2013;344(2):479-88.
59. Rietjens SJ, Hondebrink L, Westerink RHS, Meulenbelt J. Pharmacokinetics and pharmacodynamics of 3,4-methylenedioxyamphetamine (MDMA): interindividual differences due to polymorphisms and drug-drug interactions. *Crit Rev Toxicol* 2012;42(10):854-76.
60. Cole JC, Sumnall HR. Altered states: the clinical effects of Ecstasy. *Pharmacol Ther* 2003;98(1):35-58.
61. Meyer MR, Peters FT, Maurer HH. The role of human hepatic cytochrome P450 isozymes in the metabolism of racemic 3,4-methylenedioxy-methamphetamine and its enantiomers. *Drug Metab Dispos Biol Fate Chem* 2008;36(11):2345-54.
62. Hartman RL, Desrosiers NA, Barnes AJ, et al. 3,4-Methylenedioxyamphetamine (MDMA) and metabolites disposition in blood and plasma following controlled oral administration. *Anal Bioanal Chem* 2014; 406(2):587-99.
63. Abraham TT, Barnes JA, Lowe HR, Kolbrich Spargo AE, Milman G, Pirnay OS, et al. Urinary MDMA, MDA, HMMA and HMA Excretion Following Controlled MDMA Administration to Humans. *J Anal Toxicol* 2009;33(8):439-46.
64. De le Torre, Farre M, Roset PM, Pizzaro N, Abanades S, Segura M, et al. Human pharmacology of MDMA: pharmacokinetics, metabolism and disposition. *Ther Drug Monit* 2004;26:137-44.
65. Kalant H. The pharmacology and toxicology of „ecstasy“ (MDMA) and related drugs. *CMAJ* 2001;165:917-28.
66. Pizzaro N, Farre M, Pujadas M, Peiro AM, Roset PN, Joglar J, et al. Stereochemical analysis of 3,4-methylenedioxyamphetamine and its main metabolites in human samples including the catechol-type metabolite (3,4-methylenedioxyamphetamine). *Drug Metab Dispos* 2004;32:1001-7.
67. Fallon JK, Kicman AT, Henry JA, Milligan PJ, Cowan DA, Hutt AJ. Stereospecific analysis and enantiomeric disposition of 3,4-methylenedioxyamphetamine (Ecstasy) in humans. *Clin Chem* 1999;45:1058-69.
68. Jansen KL. Ecstasy (MDMA) dependence. *Drug Alcohol Depend* 1999;53:121-4.

69. Thimm B. Arbeitsgedächtnis und Merkfähigkeit bei Ecstasy-Konsumenten [dissertation]. Aachen: Medizinischen Fakultät der Rheinisch-Westfälischen Technischen Hochschule;2006:7-8.
70. Wood DM, Strbley V, Dragan PI, Davies S, Holt DW, Ramsey J. Variability in the 3,4-methylenedioxyamphetamine content of „ecstasy“ tablets in UK. *Emerg Med J* 2011; 28:764-5.
71. Parrott AC. Chronic tolerance to recreational MDMA (3,4-methylenedioxyamphetamine) or Ecstasy. *J Psychopharmacology* 2005;19:71-83.
72. Davies N, English W, Grundlingh J. MDMA toxicity: management of acute and life-threatening presentations *BJN* 2018;27(11):616-22.
73. Hall A, Henry J. Acute toxic effects of ‘ecstasy’ (MDMA) and related compounds. *Br J Anaesth* 2006;96(6):678-85.
74. Gunja N, Graudins A. Management of cardiac arrest following poisoning. *Emerg Med Australas* 2011;23(1):1622.
75. Sessa B, Higbed L, Nutta D. Review of 3,4-methylenedioxyamphetamine (MDMA)-Assisted Psychotherapy. *Front Psychiatry* 2019;10(138):1-7.
76. Schifano F. A bitter pill. Overview of ecstasy (MDMA, MDA) related fatalities. *Psychopharmacology* 2004;173:242-8.
77. Dumont GJ, Verkes RJ. A review of acute effects of 3,4-methylenedioxyamphetamine in healthy volunteers. *J Psychopharmacol* 2006;20: 176-87.
78. Liechti ME, Kunz I, Kupferschmidt H. Acute medical problems due to Ecstasy use. Case-series of emergency department visits. *Swiss Med Wkly* 2005;135:652-7.
79. Weier E. Raves: a review of the culture, the drugs and the prevention of harm. *CMAJ* 2000;162:1843-8.
80. Regenthal R, Kruger M, Rudolph K, Trauer H, Preiss R. Survival after massive „ecstasy“ (MDMA) ingestion. *Intensive Care Med* 1999;25:640-1.
81. Ramcharan S, Meenhortst PL, Otten JM, Koks CH, De Boer D, Maes RA, et al. Survival after massive ecstasy overdose. *Clin Toxicol* 1998;36:727-31.
82. Bedford Russell AR, Schwartz RS, Dawling S. Accidental ingestion of „ecstasy“ (3,4-methylenedioxyamphetamine). *Arch Dis Child* 1992;67:1114-5.
83. Vollenweider FX, Gamma A, Liechti M, Huber T. Psychological and cardiovascular effects and short-term sequelae of MDMA („ecstasy“) in MDMA-naive healthy volunteers. *Neuropsychopharmacology* 1998;19:241-51.

84. Lester SJ, Baggott M, Welm S, Schiller NB, Jones RT, Foster E, et al. Cardiovascular effects of 3,4-methylenedioxymethamphetamine a double-blind placebo-controlled trial. *Ann Intern Med* 2000;133:969-73.
85. Harris DS, Baggott M, Mendelson JH, Mendelson JE, Jones RT. Subjective and hormonal effects of 3,4-methylenedioxymethamphetamine (MDMA) in humans. *Psychopharmacology (Berl)* 2002;162:396-405.
86. Henry JA, Jeffreys KJ, Dawling S. Toxicity and deaths of 3,4-methylenedioxymethamphetamine („ecstasy“). *Lancet* 1992;340:384-7.
87. Cruickshank CC, Dyer KR. A review of the clinical pharmacology of methamphetamine. *Addiction* 2009;104:1085-99.
88. Green AR, O'Shea E, Saadat KS, Elliott JM, Colado MI. Studies on the effect of MDMA („ecstasy“) on the body temperature of rats housed at different ambient room temperatures. *Br J Pharmacol* 2005;146:306-12.
89. Jaehne EJ, Salem A, Irvine RJ. Pharmacological and behavioral determinants of cocaine, methamphetamine, 3,4-methylenedioxymethamphetamine and para-methoxyamphetamine-induced hyperthermia. *Psychopharmacology* 2007;194:41-52.
90. Irvine RJ, Keane M, Felgate P, McCann UD, Callaghan PD, White JM. Plasma drug concentrations and physiological measures in „dance party“ participants. *Neuropsychopharmacology* 2005;31:424-30.
91. Patel MM, Belson MG, Longwater AB, Olson KR, Miller MA. Methylenedioxymethamphetamine (ecstasy)-related hyperthermia. *J Emerg Med* 2005; 29:451-54.
92. Capela JP, Carmo H, Remiao F, Bastos ML, Meisel A, Carvalho F. Molecular and Cellular Mechanisms of Ecstasy-Induced Neurotoxicity: An Overview. *Mol Neurobiol* 2009;39:210-71.
93. Freedman RR, Johanson C-E, Tancer ME. Thermoregulatory effects of 3,4-methylenedioxymethamphetamine (MDMA) in humans. *Psychopharmacology* 2005; 183:248-56.
94. Mijač M, Draganić V, Radonjić V. Anatomija čoveka - abdomen i karlica. 3rd ed. Beograd. Savremena administracija; 2005: p.142-58. (Serbian)
95. Danziger J, Zeidel M, Parker MJ, Schwartzstein RM. Renal Physiology: A Clinical Approach (Integrated Physiology). Philadelphia: Lippincott Williams and Wilkins; 2012. p.30-47.
96. Hoenig MP, Zeidel ML. Homeostasis, the milieu interieur and the wisdom of the nephron. *Clin J Am Soc Nephrol* 2014;9(7):1272-81.
97. Subramanya AR, Ellison DH. Distal convoluted tubule. *Clin J Am Soc Nephrol*. 2014;9(12):2147-63.

98. Curthoys NP, Moe OW. Proximal tubule function and response to acidosis. *Clin J Am Soc Nephrol* 2014;9(9):1627-38.
99. Krmpotić-Nemanić J, Marušić A. Anatomija čovjeka. 2nd ed. Zagreb: Medicinska naklada; 2007:p.353-9. (Croatian)
100. Fanghanel J, Anderhuber F, Pera F. Waldeyerova anatomija čovjeka. 17th ed. Zagreb: Golden marketing-tehnička knjiga; 2009. p.486-9. (Croatian)
101. Draganić V, Jeličić AN, Đorđević LJ, Radonjić V, Pejković B. Anatomija čoveka - priručnik za praktičnu nastavu. 1st ed. Beograd:Savremena administracija; 1997. p.220-2. (Serbian)
102. Krmpotić-Nemanić J. Anatomija covjeka. 5th ed. Zagreb. Medicinska naklada; 1993. p.831-5. (Croatian)
103. Krstić RV. Human microscopy anatomy: An atlas for students of medicine and biology. 1st ed. Berlin. Springer-Verlag; 1991. p.296-312.
104. Lačković V, Nikolić RI, Todorović V. Osnovna i oralna histologija i embriologija. 1st ed. Beograd: Data status; 2012. p. 283-9.(Serbian)
105. Junqueira L, Carneiro J. Osnove histologije. 1st ed. Zagreb. Školska knjiga;2005: p.383-401). (Croatian)
106. Anđelković Z, Somer Lj, Perović M, Avramović V, Milenkova Lj, Kostovska N, Petrović A. Histološka građa organa. Niš: Bonafides; 2001. p.116-18. (Serbian)
107. Michael HR, Gordon IK, Wojciech P. Histology a text and atlas. 4th ed. Philadelphia: Lippincott Williams and Wilkins; 2004. p.707-9.
108. Clapp WL, Croker BP. Kidney, In: Mills, editors. Histology for pathologists. 3rd ed. Philadelphia: Lippincott Williams and Wilkins;2007. p.839-95.
109. Carretero A, Ruberte J, Navarro M, Nacher V, Espada Y. Urinary organs. In: Ruberte J, Carretero A, Navarro M, editors. Morphological Mouse Phenotyping: Anatomy, Histology and Imaging. Madrid: Editorial Medica Panamericana S.A; 2017. p 179.
110. Treuting PM, Kowalewska J. Urinary system. In: Treuting PM, Dintzis S, Liggitt D, Frevert CW, Montine KS, editors. Comparative Anatomy and Histology: A Mouse and Human Atlas. San Diego: Academic Press; 2012. p. 229-51.
111. Taal WM, Chertow MG, Marsden AP, Skorecki K, Yu SLA, Brenner MB. Brenner & Rector's the kidney. 9th ed. Philadelphia: Elsevier Saunders; 2012. p.82-4.
112. Yabuki A, Suzuki S, Matsumoto M, Nishinakagawa H. Sex-and strain-dependent histological features of the proximal convoluted tubular epithelium of mouse kidney: association with lysosomes containing apolipoprotein B. *Histol Histopathol* 2002;17:1-7.

113. De Braganca AC, Moreau RLM, de Brito T, Shimizu MHM, Canale D, De Jesus DA, et al. Ecstasy induces reactive oxygen species, kidney water absorption and rhabdomyolysis in normal rats. Effect of N-acetylcysteine and Allopurinol in oxidative stress and muscle fiber damage. *PloS One* 2017;12(7):e0179199.
114. Karch S. Pathology of drug abuse. 4th ed. Boca Raton: CRC Press; 2009. p.291.
115. Garland A, Campbell GA, Rosner HM. The Agony of Ecstasy: MDMA (3,4-Methylenedioxymethamphetamine) and the Kidney. *Clin J Am Soc Nephrol* 2008;3(6):1852-60.
116. Campbell GA, Rosner MH. The agony of Ecstasy: MDMA (3,4-Methylenedioxymethamphetamine) and the kidney. *Clin J Am Soc Nephrol* 2008;3:1852-60.
117. Rusyniak DE, Tandy SL, Hekmatyar SK, Mills E, Smith DJ, Bansal N, et al. The role of mitochondrial uncoupling in 3,4-methylenedioxymethamphetamine-mediated skeletal muscle hyperthermia and rhabdomyolysis. *J Pharmacol Exp Ther* 2005;313:629-39.
118. Bora F, Yilmaz F, Bora T. Ecstasy (MDMA) and its effects on kidneys and their treatment: a review. *Iran J Basic Med Sci* 2016;19:1151-8.
119. Eldehni MT, Ian SDR, Naik R, Vaux E. Case report of ecstasy-induced renal venous thrombosis. *NDT Plus* 2010;3:459-60.
120. Bingham C, Beaman M, Nicholls AJ, Anthony PP. Necrotizing renal vasculopathy resulting in chronic renal failure after ingestion of methamphetamine and 3,4-methylenedioxymethamphetamine („ecstasy“). *Nephrol Dial Transplant* 1998;3: 2654-5.
121. Dar KJ, McBrien ME. MDMA induced hyperthermia: report of a fatality and review of current therapy. *Intensive Care Med* 1996;22:995-6.
122. Fineschi V, Centini F, Mazzeo E, Turillazzi E. Adam (MDMA) and Eve (MDEA) misuse: an immunohistochemical study on three fatal cases. *Forensic Sci Int* 1999;104: 65-74.
123. Karlovšek MZ, Alibegović A, Balažić J. Our experiences with fatal ecstasy abuse (two case reports). *Forensic Sci Int* 2005;147:77-80.
124. Tsokos M. Forensic Pathology Reweives. 1st ed. New Jersey: Humana Press Inc; 2005. p. 390.
125. Van Dijken DG, Blom ER, Hene JR, Boer HW. High incidence of mild hyponatraemia in females using ecstasy at a rave party. *Nephrol Dial Transplant* 2013; 28:2277-83.
126. Parott AC. MDMA and temperature: A review of the thermal effects of „Ecstasy“ in humans. *Drug Alcohol Depend* 2012;(121):1-9.
127. Jamshidi N, Dawson A. The hot patient: acute drug-induced hyperthermia. *Aust Prescr* 2019;42:24-8.

128. Melberg JE, Seiden LS. Small changes in ambient temperature cause large changes in 3,4-methylenedioxymethamphetamine (MDMA) - induced serotonin neurotoxicity and core body temperature and core body temperature in the rat. *J Neurosci* 1998;18(13):5086-94.
129. Grunau BE, Wiens MO, Brubacher JR. Dantrolenn the treatment of MDMA-related hyperpyrexia: a systematic review. *CJEM* 2010;12:435-42.
130. McAllen KJ, Schwartz DR. Adverse drug reactions resulting in hyperthermia in the intensive care unit. *Crit Care Med* 2010;38:244-52.
131. Green AR, O'Shea E, Colado MI. A review of the mechanisms involved in the acute MDMA (ecstasy)-induced hyperthermic response. *Eur J Pharmacol* 2004;500:3-13.
132. Carvalho M, Carvalho F, Remiao F, De Lourdes Pereira M, Pires-das-Neves R, De Lourdes Bastos M. Effect of 3,4-methylenedioxyamphetamine ("ecstasy") on body temperature and liver antioxidant status in mice: influence of ambient temperature. *Arch Toxicol* 2002;76:166-72.
133. Alves E, Summavielle T, Alves CJ, Gomes-da-Silva J, Barata JC, et al. Monoamine oxidase-B mediates ecstasy-induced neurotoxic effects to adolescent rat brain mitochondria. *J Neurosci* 2007;27:10203-10.
134. Colado M, Williams J, Green A. The hyperthermic and neurotoxic effects of Ecstasy (MDMA) and 3,4-methylenedioxyamphetamine (MDA) in the Dark Agouti (DA) rat, a model of the CYP2D6 poor metabolizer phenotype. *Br J Pharmacol* 1995;115:1281-89.
135. Barbosa DJ, Capela JP, Silva R, Ferreira LM, Branco PS, et al. "Ecstasy"-induced toxicity in SH-SY5Y differentiated cells: role of hyperthermia and metabolites. *Arch Toxicol* 2014;88:515-31.
136. Capela J, Macedo C, Branco P, Ferreira LM, Lobo A, et al. Neurotoxicity mechanisms of thioether ecstasy metabolites. *Neuroscience* 2007;146:1743-57.
137. Rusyniak DE, Sprague JE. Toxin-induced hyperthermic syndromes. *Med Clin North Am* 2005;89:1277-96.
138. Mechan OA, Esteban B, O'Shea E, Elliott MJ, Colado IM, Green R. The pharmacology of the acute hyperthermic response that follows administration of 3,4-methylenedioxyamphetamine (MDMA, "ecstasy") to rats. *Br J Pharmacol* 2002;135(1):170-80.
139. Ninković M, Selaković V, Dukić M, Milosavljević P, Vasiljević I, Jovanović M et al. Oxidative stress in rat kidneys due to 3,4-methylenedioxyamphetamine (ecstasy) toxicity. *Nephrology* 2008;13:33-7.
140. Maličević Ž, Ninković M, Vasiljević I, Selaković V, Jovanović M. n-metil 3,4-metilendioksi-amfetamin „ekstazi“ - biohemijski, farmakološki i toksički efekti. *Vojnosanit Pregl* 2005;62(6):467-75. (Serbian)



141. Marinković N, Maličević Ž, Dimitrijević J. Uticaj temperature okoline na hepatocelularno oštećenje kod pacovanakon unošenja 3,4-metilendioksimetamfetamina. *Vojnosanit Pregl* 2011;68(7): 561-66.
142. Liechti EM. Effects of MDMA on body temperature in humans. *Temperature* 2014;1(3):192-200.
143. Miljković D. Histomorfološke, imunohistohemijske i biohemijske karakteristike oštećenja bubrega kod miševa u modelu toksične nefropatije izazvane aristolohičnom kiselinom. [doktorska disertacija]. Novi Sad: Medicinski fakultet u Novom Sadu; 2019.
144. Fahal IB, Sallomi DF, Yaqoob M, Bell GM: Acute renal failure after ecstasy. *BMJ* 1992;305:29.
145. Simić I, Maličević Ž. Akutni i suphronicni uticaj 3,4-metilendioksimetamfetamina na telesnu temperaturu kod pacova. *Med Pregl* 2009;XLII(3-4): 124-7.
146. Dafters, RI. Hyperthermia following MDMA administration in rats: effects of ambient temperature, water consumption, and chronic dosing. *Physiol Behav* 1995; 58(5):877-82.
147. Schmidt CJ, Black CK, Abbate GM, Taylor VL. Methylenedioxymethamphetamine-induced hyperthermia and neurotoxicity are independently mediated by 5- HT2 receptors. *Brain Research* 1990;529(1-2):85-90.
148. Gordon CJ, Watkinson WP, O'Callaghan JP, Miller DB. Effects of 3,4-methylenedioxymethamphetamine on autonomic thermoregulatory responses of the rat. *Pharmacol Biochem Behav* 1991;38:339-44.
149. Lalich J. The influence of injections of homologous hemoglobin on the kidneys of normal and dehydrated animals. *J Exp Med* 1947;86:153.
150. Burger FJ, Fuhrman FA. Evidence of injury by heat in mammalian tissues. *Amer J Physiol* 1964;206:1057.
151. Feio-Azevedo R, Costa VM, Barbosa DJ, Teixeira-Gomes A, Pita I, Gomes S et al. Aged rats are more vulnerable than adolescents to "ecstasy"-induced toxicity. *Arch Toxicol* 2018;92:2275-95.
152. Teixeira Gomes A, Costa VM, Feio-AzevedoR, Duarte JA, Duarte-Araujo M, Fernandes E et al. "Ecstasy" toxicity to adolescent rats following an acute low binge dose. *BMC Pharmacology and Toxicology* 2016;17:28.
153. Mokhtari T, Sheikhzadi A, Hassanzadeh G, Safari M, Sheikhabaei F, Hedyeh FG, et al. Potential adverse effects of amphetamines on kidney; a narrative review on current knowledge. *J Renal Inj Prev* 2018;7(4):218-23.
154. Orth SR. Adverse renal effects of legal and illicit drugs. *Ther Umsch* 2002;59:122-30.
155. Milroy CM, Parai JL. The histopathology of drugs of abuse. *Histopathology* 2011;59:579-93.

156. Vupputuri S, Batuman V, Muntner P, Bazzano LA, Lefante JJ, Whelton PK et al. The risk for mild kidney function decline associated with illicit drug use among hypertensive men. *Am J Kidney Dis* 2004;43:629-35.
157. Stewart H. Acute renal failure after amphetamine presenting with loin pain. *Br J Urol*. 1998; 81:160-1.
158. Ago M, Ago K, Hara K, Kashimura S, Ogata M. Toxicological and histopathological analysis of a patient who died nine days after a single intravenous dose of methamphetamine: a case report. *Leg Med (Tokyo)*. 2006;8:235-9.
159. Kwon C, Zaritsky A, Dharnidharka VR. Transient proximal tubular renal injury following Ecstasy ingestion. *Pediatr Nephrol*. 2003;18:820-2.
160. Ishigami A, Tokunaga I, Gotohda T, Kubo S. Immunohistochemical study of myoglobin and oxidative injury-related markers in the kidney of methamphetamine abusers. *Leg Med (Tokyo)*. 2003;5:42-8.
161. Basile PD, Anderson DM, Sutton TA. Patophysiology of acute kidney injury. *Compr Physiol* 2012;2(2):1303-53.
162. Tokunaga I, Kubo S-i, Ishigami A, Gotohda T, Kitamura O. Changes in renal function and oxidative damage in methamphetamine-treated rat. *Legal Med*. 2006;8:16-21.
163. Song BJ, Moon KH, Upreti V, Eddington N, Leev I. Mechanisms of MDMA (ecstasy)-induced oxidative stress, mitochondrial dysfunction, and organ damage. *Curr Pharm Biotechnol*. 2010;11:434-43.
164. Bellomo R, Ronco C, Kellum JA. Acute kidney injury. *Lancet* 2012;380:756-66.
165. Mehta RL, Kellum JA, Shah SV et al. Acute Kidney Injury Network: report of an initiative to improve outcomes in acute kidney injury. *Crit Care* 2007;11:R31.
166. Frith CH, Chang LW, Lattin DL, Walls RC, Hamm J, Doblin R. Toxicity of Methylenedioxymethamphetamine (MDMA) in the Dog and the Rat. *Fundamental and Applied Toxicology* 1987;9:110-119.
167. Osawa G, Kimmelstiel P, Seiling V. Thickness of glomerular basement membranes. *Amer J Clin Path* 1966;45:7.
168. Jorgensen F. *The Ultrastructure of the Normal Human Glomerulus*. Copenhagen: Munksgard International Booksellers and Publishers Ltd; 1966.
169. Schrier RW, Henderson HS, Tisher CC, Tannen RL. Nephropathy associated with heat stress and exercise. *Ann Intern Med* 1967;67:356-67.
170. Marinković N. Uticaj temperature okoline na hepatocelularno oštećenje pacova uzrokovano 3,4-metilendioksimetamfetaminom [magistarski rad]. Beograd: Vojnomedicinska akademija; 2001.

171. Soto-Montenegro ML, Vaquero JJ, Arango C, Ricaurte C, Garcia-Barreno P, Desco M. Effects of MDMA on blood glucose levels and brain glucose metabolism. *Eur J Nucl Med Mol Imaging* 2007;34:916-25.
172. Montgomery H, Myerson S. 3,4-Methylenedioxyamphetamine (MDMA, or “ecstasy”) and associated hypoglycemia. *Am J Emerg Med* 1997;15(2):218.
173. Carrera P, Iyer NV. Profound Hypoglycemia with Ecstasy Intoxication. *Case Rep Emerg Med.* 2015:483153.
174. Traub JS, Hoffman SR, Nelson SL. The “Ecstasy” Hangover: Hyponatremia Due to 3,4-Methylenedioxyamphetamine. *J Urban Health* 2002;79(4):549-55.
175. Williams A, Unwin R. Prolonged elevation of serum creatine kinase (CK) ingestion without renal failure after ingestion of ecstasy. *Nephrol Dial Transplant* 1997;12:361-75.
176. Coles E: *Veterinary clinical pathology.* Philadelphia W.B. Saunders;1986.
177. Eldes N, Ameer H, Horozoglu H, Ylmaz Y. Increased Creatinine Kinase Levels due to MDMA use without Myoglobinuria and Renal Failure. *Marmara Medical Journal* 2012;25:41-4.
178. Saladin KS. *Anatomy and Physiology: The Unity of Form and Function.* 8th ed. Boston: WCB McGraw Hill;2018.
179. Brandao Tavares M, da Conceicao Chagas de Almeida M, Tarita Cruz Martins R, Carolina Gil Pinho de Sousa A, Martinelli R, Luis Conrado dos-Santos W. Acute Tubular Necrosis and Renal Failure in Patients with Glomerular Disease. *Renal Failure* 2012;34(10):1252-1257.
180. Waikar SS, Betensky RA, Bonventre JV. Creatinine as the gold standard for kidney injury biomarker studies? *Nephrol Dial Transplant* 2009;24(11):3263-65.
181. Bellomo R, Ronco C, Kellum JA, Mehta RL, Palevsky P. Acute renal failure-Definition, outcome measures, animal models, fluid therapy and information technology needs: The Second International Consensus Conference of the Acute Dialysis Quality Initiative (ADQI) group. *Crit Care* 2004;8(4):R204-R21263.
182. Bagshaw SM, George C, Dinu I, Bellomo R. A multi-centre evaluation of the RIFLE criteria for early acute kidney injury in critically ill patients. *Nephrol Dial Transplant* 2008;23(4):1203-10.
183. Ricci Z, Cruz D, Ronco C. The RIFLE criteria and mortality in acute kidney injury: A systematic review. *Kidney Int* 2008;73(5):538-46.
184. Knochel JP. Rhabdomyolysis and myoglobinuria. *Semin Nephrol* 1981;1:75-86.
185. Cunningham M. Ecstasy-induced rhabdomyolysis and its role in the development of acute renal failure. *Intensivveand Crtlcal Care Nursing* 1997;13:216-23.

186. Koeffler A, Friedler RM, Massry SG. Acute renal failure due to non-traumatic rhabdomyolysis. *Ann Intern Med* 1976;85(1):23-8.
187. Grossman RA, Hamilton RW, Morse BM, et al. Non-traumatic rhabdomyolysis and acute renal failure. *N Engl J Med* 1974;291(16):807-11.
188. Cunningham M. Ecstasy-induced rhabdomyolysis and its role in the development of acute renal failure. *Intensiv and Critical Care Nursing* 1997;13:216-23.
189. McNeely J, Parikh S, Valentine C, Haddad N, Shidham G, Rovin B et al. Bath Salts: A Newly Recognized Cause of Acute Kidney Injury. *Case Reports in Nephrology* 2012;2012:1-5.
190. Dittrich KL, Walls RM. Hyperkalemia: ECG manifestations and clinical considerations. *Journal of Emergency Medicine* 1986;4(6):449-55.
191. Parham WA, Mehdirad AA, Biermann KM, Fredman CS. Hyperkalemia revisited. *Texas Heart Institute Journal* 2006; 33(1):40-7.
192. Klingler W, Heffron JA, Jurkat-Rott K, O'Sullivan G, Andreas A, Schlesinger F et al. 3,4-Methylenedioxymethamphetamine (Ecstasy) Activates Skeletal Muscle Nicotinic Acetylcholine Receptors. *J Pharmacol Exp Ther* 2005;314(3):1267-73.
193. Boulanger-Gobeil C, St-Onge M, Laliberte M et al. Seizures and Hyponatremia Related to Ethcathinone and Methyloone Poisoning. *J Med Toxicol* 2012;8:59-61.
194. Beitia G, Cobreros A, Sainz L, Cenarruzabeitia E. Ecstasy-induced toxicity in rat liver. *Liver* 2000;20:8-15.
195. Majkić Singh N. *Klinička enzimologija*. 1st ed. Subotica: AID Praktikum; 1993.
196. Safari S, Yousefifard M, Hashemi B et al. The value of serum creatine kinase in predicting the risk of rhabdomyolysis-induced acute kidney injury: a systematic review and meta-analysis. *Clin Exp Nephrol* 2016;20:153-61.
197. Sano R, Hasuike T, Nakano M, Kominato Y, Itoh H. A fatal case of myocardial damage due to misuse of the "designer drug" MDMA. *Leg Med* 2009;11(6):294-7.
198. Murthy BVS, Wilkes RG, Roberts NB. Creatine kinase isoform changes following ecstasy overdose. *Anaesth Intensiv Care* 1997;25:156-9.
199. Jerrold B, Leikin M.D, William A, Watson Pharm D. Post-mortem Toxicology: What The Dead Can And Cannot Tell Us. *J Toxicol Clin Toxicol* 2003;41(1):47-56.
200. Walubo A, Seger D. Fatal multi-organ failure after suicidal overdose with MDMA, "Ecstasy": case report and review of the literature. *Hum Exp Toxicol* 1999. 18(2):119-25.
201. Sprague JE, Brutcher RE, Mills EM, Caden D, Rusyniak DE. Attenuation of 3,4-methylenedioxymethamphetamine (MDMA, Ecstasy)-induced rhabdomyolysis with  $\alpha 1$ -plus  $\beta 3$ -adrenoreceptor antagonists. *Br J Pharmacol* 2004; 142:667-70.

202. Davies A. Acute renal failure due to drug-induced rhabdomyolysis. *British Journal of Nursing* 1995;4(13):771-74.
203. Hall AP, Lyburn ID, Spears FD, Riley B. An unusual case of Ecstasy poisoning. *Intensive Care Med* 1996;22(7):670-1.
204. Logan AS, Stickle B, O'Keefe N, Hewitson H. Survival following „Ecstasy“ ingestion with a peak temperature of 42° C. *Anaesthesia* 1993;48:1017-8.

Овај Образац чини саставни део докторске дисертације, односно докторског уметничког пројекта који се брани на Универзитету у Новом Саду. Попуњен Образац укоричити иза текста докторске дисертације, односно докторског уметничког пројекта.

## План третмана података

<b>Назив пројекта/истраживања</b>
<b>„Упоредна анализа патохистолошких промена у бубрезима и промена вредности биохемијских параметара у крви код људи и пацова узрокованих 3,4-метилендиоксиметамфетаминем (МДМА)“</b>
<b>Назив институције/институција у оквиру којих се спроводи истраживање</b>
а) <b>Институт за патологију и судску медицину, Војномедицинска академија, Београд</b> б) в)
<b>Назив програма у оквиру ког се реализује истраживање</b>
<b>1. Опис података</b>
1.1 Врста студије <i>Укратко описати тип студије у оквиру које се подаци прикупљају</i> <b><u>Докторска дисертација</u></b>
1.2 Врсте података а) <b><u>квантитативни</u></b> б) <b><u>квалитативни</u></b>
1.3. Начин прикупљања података а) анкете, упитници, тестови б) <b><u>клиничке процене, медицински записи, електронски здравствени записи</u></b> в) генотипови: навести врсту _____ г) административни подаци: навести врсту _____ д) узорци ткива: <b><u>узрци ткива бубрега огледних животиња (пацови) и хуманих кадавера</u></b>

ђ) снимци, фотографије: фотографија таблета екстазија, фотографија микроскопа Olympus BX 43 са дигиталном камером Olympus SC 50 (Немачка), фотографије патохистолошких препарата узорака ткива бубрега пацова бојених стандардном методом хематоксилин - еозин (H&E), фотографије патохистолошких препарат узорака ткива бубрега хуманих кадавера бојених методом Periodic Acid Schiff (PAS) - Mc Manus

е) текст, навести врсту литература

ж) мапа, навести врсту \_\_\_\_\_

з) остало: описати експериментални подаци

### 1.3 Формат података, употребљене скале, количина података

#### 1.3.1 Употребљени софтвер и формат датотеке:

а) Ехсел фајл, датотека .xlsx, .csv

б) SPSS фајл, датотека .spv, .sav

в) PDF фајл, датотека .pdf

г) Текст фајл, датотека .docx

д) JPG фајл, датотека .jpg, .jpeg, .png, .tif

е) Остало, датотека \_\_\_\_\_

#### 1.3.2. Број записа (код квантитативних података)

а) број варијабли велики број варијабли

б) број мерења (испитаника, процена, снимака и сл.) \_\_\_\_\_

#### 1.3.3. Поновљена мерења

а) да

б) не

Уколико је одговор да, одговорити на следећа питања:

а) временски размак између поновљених мера је \_\_\_\_\_

б) варијабле које се више пута мере односе се на \_\_\_\_\_

в) нове верзије фајлова који садрже поновљена мерења су именоване као \_\_\_\_\_

Напомене: \_\_\_\_\_

Да ли формати и софтвер омогућавају дељење и дугорочну валидност података?

а) Да

б) Не

Ако је одговор не, образложити \_\_\_\_\_

\_\_\_\_\_

## 2. Прикупљање података

### 2.1 Методологија за прикупљање/генерисање података

2.1.1. У оквиру ког истраживачког нацрта су подаци прикупљени?

а) експеримент, навести тип **патохистолошка анализа узорака ткива бубрега и анализа вредности биохемијских параметара у крви пацова**

б) корелационо истраживање, навести тип \_\_\_\_\_

ц) анализа текста, навести тип **прикупљање података из литературе**

д) остало, навести шта \_\_\_\_\_

2.1.2 Навести врсте мерних инструмената или стандарде података специфичних за одређену научну дисциплину (ако постоје).

**Узорци ткива бубрега пацова и хуманих кадавера су стандардном процедуром фиксирајући у 4% пуферисаном неутралном формалину, дехидрирани у растућим концентрацијама етанола према следећем протоколу: два сата у 70% етанолу, два сата у 80% етанолу, два сата у 96% етанолу, 45 минута у 100% етанолу и просветљени један сат у хлороформу. После дехидратације узорци ткива бубрега су прожети загрејаним чврстим парафином на 60°C у апарату за аутоматску фиксирајућу ткивних узорака ASP 300 S, Leica (Немачка) и укаљујући у парафинске патохистолошке калупе апаратом Histostar марке Thermo Scientific (САД).**

**Парафински патохистолошки калупи узорака ткива бубрега су сечени аутоматским ротационим микротомом марке Leica RM 2135 (Немачка) на резове дебљине 4  $\mu$ m и стављани на површину загрејане воде у воденом купатилу марке Leica HI 1210 (Немачка), а затим на микроскопска предметна стакла. Пресеци ткива су сушени на топлој плочи марке Leica HI 1220 (Немачка) један сат, а након тога ће бити депарафинисани, хидратисани и бојени стандардном методом хематоксилин - еозин (H&E) апаратом марке Leica ST 5020 (Немачка) и хистохемијском методом PAS (Periodic Acid Schiff) - McManus, а затим монтирани DPX-ом на апарат за аутоматско поклапање препарата марке Leica CV 5030 (Немачка).**

**Патохистолошки микроскопски препарати ткива бубрега су анализирани на увећавању објектива 10X, 20X и 40X светлосним микроскопом марке Olympus BX 43 са дигиталном камером Olympus SC 50 (Немачка) са софтверским програмом за дигиталну анализу слика CellSense entry и снимани дигиталном камером повезаном са микроскопом. Анализирано је 10 видних поља са увећавањем објектива 20X и 40X која су фотографисана по један пут.**



**Добијене дигиталне слике су коришћене за квантификовање патохистолошких промена у ткиву бубрега морфометријском анализом.**

## 2.2 Квалитет података и стандарди

### 2.2.1. Третман недостајућих података

а) Да ли матрица садржи недостајуће податке? Да **Не**

Ако је одговор да, одговорити на следећа питања:

- а) Колики је број недостајућих података? \_\_\_\_\_
- б) Да ли се кориснику матрице препоручује замена недостајућих података? Да Не
- в) Ако је одговор да, навести сугестије за третман замене недостајућих података
- \_\_\_\_\_

### 2.2.2. На који начин је контролисан квалитет података? Описати

**Квалитет података је контролисан применом статистичких тестова, одбацивањем екстрема и валидацијом добијених података**

### 2.2.3. На који начин је извршена контрола уноса података у матрицу?

**Контрола уноса података у матрицу је изведена поређењем добијених података са литературним подацима**

## 3. Третман података и пратећа документација

### 3.1. Третман и чување података

3.1.1. Подаци ће бити депоновани у **Репозиторијуму докторских дисертација Универзитета у Новом Саду**

3.1.2. URL адреса **<https://cris.uns.ac.rs/searchDissertations.jsf>**

3.1.3. DOI \_\_\_\_\_

3.1.4. Да ли ће подаци бити у отвореном приступу?

- а) **Да**
- б) Да, али после ембарга који ће трајати до \_\_\_\_\_
- в) Не

Ако је одговор не, навести разлог \_\_\_\_\_

3.1.5. Подаци неће бити депоновани у репозиторијум, али ће бити чувани.

Образложење

---

---

3.2 Метаподаци и документација података

3.2.1. Који стандард за метаподатке ће бити примењен? \_\_\_\_\_

3.2.1. Навести метаподатке на основу којих су подаци депоновани у репозиторијум.

---

---

Ако је потребно, навести методе које се користе за преузимање података, аналитичке и процедуралне информације, њихово кодирање, детаљне описе варијабли, записа итд.

---

---

---

---

3.3 Стратегија и стандарди за чување података

3.3.1. До ког периода ће подаци бити чувани у репозиторијуму? \_\_\_\_\_

3.3.2. Да ли ће подаци бити депоновани под шифром? Да Не

3.3.3. Да ли ће шифра бити доступна одређеном кругу истраживача? Да Не

3.3.4. Да ли се подаци морају уклонити из отвореног приступа после извесног времена?

Да Не

Образложити

#### 4. Безбедност података и заштита поверљивих информација

Овај одељак МОРА бити попуњен ако ваши подаци укључују личне податке који се односе на учеснике у истраживању. За друга истраживања треба такође размотрити заштиту и сигурност података.

##### 4.1 Формални стандарди за сигурност информација/података

Истраживачи који спроводе испитивања с људима морају да се придржавају Закона о заштити података о личности ([https://www.paragraf.rs/propisi/zakon\\_o\\_zastiti\\_podataka\\_o\\_licnosti.html](https://www.paragraf.rs/propisi/zakon_o_zastiti_podataka_o_licnosti.html)) и одговарајућег институционалног кодекса о академском интегритету.

4.1.2. Да ли је истраживање одобрено од стране етичке комисије? **Да** Не

Ако је одговор Да, навести датум и назив етичке комисије која је одобрила истраживање

**21.03.2018. године - Етичка Комисија за заштиту добробити огледних животиња Универзитета у Новом Саду**

**13.05.2019. године - Етички одбор Војномедицинске академије Београд**

**12.06.2019. године - Комисија за етичност клиничких испитивања Медицинског факултета у Новом Саду**

4.1.2. Да ли подаци укључују личне податке учесника у истраживању? Да **Не**

Ако је одговор да, наведите на који начин сте осигурали поверљивост и сигурност информација везаних за испитанике:

- а) Подаци нису у отвореном приступу
- б) Подаци су анонимизирани
- ц) Остало, навести шта

#### 5. Доступност података

##### 5.1. Подаци ће бити

а) **јавно доступни**

б) доступни само уском кругу истраживача у одређеној научној области

ц) затворени

Ако су подаци доступни само уском кругу истраживача, навести под којим условима могу да их користе:

---

---

Ако су подаци доступни само уском кругу истраживача, навести на који начин могу приступити подацима:

---

---

5.4. Навести лиценцу под којом ће прикупљени подаци бити архивирани.

**Ауторство некомерцијално делити под истим условима**

## 6. Улоге и одговорност

6.1. Навести име и презиме и мејл адресу власника (аутора) података

**Иван Алексић, ivanaleksic77@yahoo.com**

6.2. Навести име и презиме и мејл адресу особе која одржава матрицу с подацима

**Иван Алексић, ivanaleksic77@yahoo.com**

6.3. Навести име и презиме и мејл адресу особе која омогућује приступ подацима другим истраживачима

**Иван Алексић, ivanaleksic77@yahoo.com**