

УНИВЕРЗИТЕТ У БАЊОЈ ЛУЦИ  
ПРИРОДНО-МАТЕМАТИЧКИ ФАКУЛТЕТ



РЕПУБЛИКА СРПСКА  
УНИВЕРЗИТЕТ У БАЊОЈ ЛУЦИ  
ПРИРОДНО-МАТЕМАТИЧКИ ФАКУЛТЕТ  
Број: 19-1478/16  
Датум: 31.05.2016. год.  
БАЊА ЛУКА

### ИЗВЈЕШТАЈ

о оцјени урађене докторске тезе кандидата мр Маје Манојловић

#### ПОДАЦИ О КОМИСИЈИ

На основу члана 149. Закона о високом образовању („Службени гласник Републике Српске“ број: 73/10, 104/11, 84/12, 108/13 и 44/15) Наставно-научно вијеће на 175. сједници одржаној 20.04.2016. године донијело је Одлуку број: 19/3.1150/16, о именовању Комисије за оцјену урађене докторске дисертације Кандидата мр Маје Манојловић под насловом:

„Екотоксиколошка истраживања интоксикације олово-ацетатом и alloxan-ом Wistar пацова инфицираних ешерихијом (*Escherichia coli*)“.

Састав Комисије је сљедећи:

1. Др Свјетлана Лолић, доцент на Универзитету у Бањој Луци- Природно-математички факултет, ужа научна област: Микробиологија, биологија ћелије, председник;
2. Др Ивица Радовић, редовни професор Универзитета у Београду- Факултет безбедности, ужа научна област: Екологија, биогеографија и заштита животне средине, ментор, члан;
3. Др Радослав Декић, ванредни професор Универзитета у Бањој Луци- Природно-математички факултет, ужа научна област: Физиологија животиња, ментор, члан;
4. Др Драгојла Голуб, доцент Универзитета у Бањој Луци- Природно-математички факултет, ужа научна област: Зоологија, члан.

Комисија је прегледала и детаљно проучила урађену докторску дисертацију мр Маје Манојловић под насловом „Екотоксиколошка истраживања интоксикације олово-ацетатом и alloxan-ом Wistar пацова

инфицираних ешерихијом (*Escherichia coli*)“ и у пуној међусобној сагласности подноси Научно-наставном вијећу Природно-математичког факултета и Сенату Универзитета у Бањој Луци овај извјештај.

### 1. УВОДНИ ДИО ОЦЈЕНЕ ДОКТОРСКЕ ТЕЗЕ

Докторска дисертација кандидата мр Маје Манојловић, под насловом „Екотоксиколошка истраживања интоксикације олово-ацетатом и аллохан-ом Wistar пацова инфицираних ешерихијом (*Escherichia coli*)“ је достављена у електронској форми и као штампани текст обима 261 стране стандардног формата А4, са проредом 1,5 текста и писана фонтом Times New Roman величине 12 pt. Садржи 43 хронолошки пописане табеле у основном тексту и прилогу, 473 графикона и 12 слика. У попису кориштене литературе кандидат је навео 275 библиографских јединица, све релевантне и референтне стручне и научне, домаће и стране публикације.

Дисертација има све елементе и облике самосталног научно-истраживачког рада. Садржи следећа поглавља:

1. УВОД
2. ОПШТЕ КАРАКТЕРИСТИКЕ
  - 2.1 Олово и његов токсични ефекат
  - 2.2 Алоксан и његово дејство
  - 2.3 *Escherichia coli* и ефекти инфекције на животињски и људски организам
  - 2.4 Оксидативни стрес
  - 2.5 Лабораторијски пацов *Rattus norvegicus* сој Wistar, албино тип
  - 2.6 Крв
3. МАТЕРИЈАЛ И МЕТОДЕ РАДА
  - 3.1. Поставка експеримента
  - 3.2. Узимање узорака крви и одређивање хематолошких параметара
  - 3.3. Морфометријске методе и узорковање унутрашњих органа
  - 3.4. Статистичка обрада података
4. РЕЗУЛТАТИ РАДА И ДИСКУСИЈА
  - 4.1 Морфометрија
  - 4.2 Еритроцитни профил
  - 4.3. Леукоцитни профил
5. ЗАКЉУЧАК
6. ЛИТЕРАТУРА
7. ПРИЛОГ

## 2. УВОД И ПРЕГЛЕД ЛИТЕРАТУРЕ

Кандидаткиња у оквиру уводног поглавља на четири странице износи основне поставке и проблематику свог рада, везану за значај утврђивања заједничког дејства два или више полутаната на органске системе експерименталних јединки. Посматран је утицај заједничког и појединачног дејства алоксана и олово-ацетата на инфициране (бактеријском суспензијом  $3 \times 10^7$  CFU/ml *Escherichia coli*) и неинфициране Wistar пацове.

Како се алоксан јавља као споредни продукт процеса избјељивања брашна и на тај начин може учествовати у људској исхрани, било је неопходно утврдити његов ефекат на организам у садејству са свакодневно присутним токсином оловом и биотоксином ешерихијом. Уједно, интраперитонеални унос већих сублеталних концентрација алоксана изазива *diabetes mellitus* тип I код лабораторијских пацова, чија инциденција у људској популацији варира од 30 на 100.000 људи у Скандинавији, до 2 на 100.000 људи у Јапану, при чему се очекује повећање броја обољелих у урбаним подручјима. Из тог разлога је било значајно утврдити дејство олова на дијабетичаре, чија је подложност инфекцијама уједно знатно већа него код здравих људи.

Евидентирано је да је у неким тежим случајевима инфекције ешерихијом код пацијената дошло до реналних компликација у виду хемолитичког уремијског синдрома (HUS), који је познат по повезаности са дијабетесом. Услед оштећења панкреаса код педијатријских пацијената заражених бактеријом *Escherichia coli* уочена је повећана инциденца инсулин зависног *diabetes mellitus*-а. Обично је повезана са отказивањем реналних функција, као последица хемолитичког уремијског синдрома. Утврђен је код пацијената који су преболели HUS праћен дијарејом повећан број случајева дијабетеса услед потпуне дефицијенције инсулина, који се може вратити неколико година након почетне инфекције.

Кандидаткиња је јасно истакла циљ истраживања, да се у лабораторијским условима испита дејство интоксикације олово-ацетатом и алоксаном на Wistar пацове инфициране ешерихијом *Escherichia coli* интраперитонеалним убризгавањем, након 24 h и 72h, пратећи вриједности крвних параметара као и морфолошких карактера унутрашњих органа.

Подаци добијени овим истраживањем значајни су за будућа истраживања из

екотоксикологије и екологије уопште. Аналитичко-статистички приступ даје увид у корелацију дужине излагања инфекцији са промјенама појединих хематолошких и морфометријских параметара, што је омогућило процјену нивоа утицаја ових фактора на здравствено стање испитиваних јединки.

У прегледу литературе, у поглављу под називом Опште карактеристике, на 36 страна текста, кандидаткиња износи податке о карактеристикама примјењиваних токсина, бактеријској инфекцији, као и о објекту истраживања - лабораторијском пацову. Консултована је релевантна савремена литература (Glavač, 2001; Gor, 2008; Sekulić *et al.*, 2003; Obradović и Đekić, 2012; Sainath *et al.*, 2011; Jablanović *et al.*, 2003; Tong *et al.*, 2000; Lidsky и Schneider, 2003; Пасуна и Пасуна, 2001; Strömberg *et al.*, 2003; Abdel-Moneim *et al.*, 2011 и многи други).

### 3. МАТЕРИЈАЛ И МЕТОД РАДА

У оквиру поглавља Материјал и методе рада на шест страница текста наведене су све примјењиване методе, кориштени материјал, као и план експеримента по фазама.

Експеримент је проведен у виваријуму Природно-математичког факултета Универзитета у Бањој Луци. Истраживања су извршена на 160 јединки Wistar пацова оба пола, уједначене старости и тјелесне масе. Експерименталне јединке су, након периода аклиматизације, подијељене у контролне и тестне групе. Третман је обухватао интоксикацију олово-ацетатом у концентрацији од 1500 ppm (ознака група Pb, Lead(II) acetate trihydrate G.R., 99.5%, Lach-ner, s.r.o., Czech Republic), алоксаном (ознака All, Alloxan monohydrate 98%, Sigma, New Jersey, USA) и инфекцију ешерихијом (ознака E за инфициране јединке; интраперитонеална администрација 0,2 ml бактеријске суспензије *Escherichia coli*, сој ATCC 11775, серотип O1:K1:H7, која је садржала  $3 \times 10^7$  CFU/ml, и ознака 0 за неинфициране јединке). Добијене вриједности праћених параметара третираних јединки су компарирани са истим код контролних јединки (ознака K).

Јединке су по третману подвргнуте кетаминској анестезији (Ketaminol 10 100 mg/ml, Intervet) и након кардијалне пункције жртвоване у складу са Смјерницама за бригу о животињама у експерименталним истраживањима („Guide for the Care and Use of Laboratory Animals“ 1996 National Academy Press, Washington, D.C.).

Број бактерија је одређен спектрофотометријски, одређивањем оптичке густине по стандардној методи ([http://delrio.dcced.edu/jreynolds/microbiology/2421/lab\\_manual/counts.pdf](http://delrio.dcced.edu/jreynolds/microbiology/2421/lab_manual/counts.pdf)).

Хематолошки и морфометријски параметри су одређени примјеном адекватних метода, у складу са наведеним циљем и планом истраживања. Примјењене методе су тачне и савремене и одговарају постављеним задацима.

Сви резултати истраживања су детаљно обрађени примјеном Office Excel 2010 (средња вриједност, минимум, максимум, стандардна девијација и стандардна грешка) и помоћу статистичког пакета SPSS 20.0 (за вишеструке компарације ANOVA, LSD тест и за међусобно поређење два третмана, односно третираних и контролних јединки Independent Samples Test, T-test for Equality of Means) и јасно и систематично приказани.

#### 4. РЕЗУЛТАТИ И НАУЧНИ ДОПРИНОС ИСТРАЖИВАЊА

Дисертација „Екотоксиколошка истраживања интоксикације олово-ацетатом и аллохан-ом Wistar пацова инфицираних ешерихијом (*Escherichia coli*)“ има велики научни значај за област екологије и посебно екотоксикологије.

Поглавље Резултати рада и дискусија је написано на 181 страници, гдје су текстуално, табеларно и графички представљени добијени резултати истраживања. Резултати су подијељени у 3 потпоглавља, у односу на врсту посматраних параметара.

У потпоглављу Морфометрија изложени су по групама резултати праћених органосоматских индекса свих експерименталних јединки, контролних и третираних. Подаци су међусобно упоређени, те су под насловом Компарација морфометријских вриједности третираних и контролних јединки су изложена статистички значајна одступања у односу на ниво поузданости од 95%. Уочена су значајна одступања индекса јетре, бубрега, срца, као и параметра прираст масе код јединки изложених појединачном и двојном третману. Најизразитије промјене посматраних параметара се уочавају при синергистичком ефекту интоксикације и инфекције.

У потпоглављу Еритроцитни профил изложени су посматрани параметри црвене лозе контролних и третираних јединки, након одговарајуће анализе узорака. Крвне вриједности су значајно модификоване дејством токсиканата, као и бактеријском инфекцијом, при појединачним третманима, а посебно двојним и скупним. Статистичком обрадом података (Компарација вриједности еритрограма третираних и контролних јединки) уочавају се у великој мјери сигнификантна

одступања вриједности укупног броја еритроцита, концентрације хемоглобина, вриједности хематокрита и индекса MCV третираних јединки у односу на јединке контролне групе (негативна К-0 и позитивна К-Е контрола), као и поређењем дејства вишеструког третмана на вриједности еритроцитног профила у односу на двојни и појединачни третман.

Истим приступом су представљени и подаци добијени за бијелу крвну лозу у потпоглављу Леукоцитни профил. Посебно су уочљиве промјене настале у диференцијалној крвној слици пацова подвргнутих синергистичком ефекту интоксикације олово-ацетатом и алоксаном са бактеријском инфекцијом. Добијене вриједности статистичке обраде резултата су представљене табеларно, графички и текстуално у Компарација добијених вриједности леукограма третираних и контролних јединки.

Кандидаткиња је јасно и критично протумачила добијене резултате, упоређујући их са резултатима других аутора, позивајући се на савремене литературне податке признатих домаћих и страних аутора.

Како се из доступне литературе не може констатовати да је раније изучавано заједничко дејство наведених токсиканата, посебно у садејству са бактеријском инфекцијом, ово истраживање представља оригинални допринос науци. Јасно се уочава знатно већи ефекат двојне интоксикације на организам у односу на појединачне третмане, док се при увођењу и бактеријске инфекције вриједности додатно погоршавају.

## 5. ЗАКЉУЧАК И ПРИЈЕДЛОГ

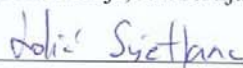
На основу правилно уоченог проблема, јасно дефинисаних циљева, адекватне методологије, јасно изложених и дискутованих резултата Комисија сматра да је докторска дисертација мр Маја Манојловић резултат самосталног и оригиналног истраживања. Кандидаткиња је темељним приступом изучавању утицаја бактеријске инфекције и интоксикације олово-ацетатом и алоксаном на морфометријске и хематолошке карактере дала оригиналан допринос науци, посебно ужим научним областима екологија и екотоксикологија животиња.

Урађена докторска дисертација указује на способност кандидаткиње да истраживању приступи логично, свеобухватно и цјеловито. Од посебног је значаја чињеница да сличних истраживања није било у овој средини.

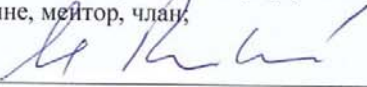
У складу са претходно наведеним Комисија за преглед, оцјену и одбрану докторске дисертације под називом „Екотоксиколошка истраживања интоксикације олово-ацетатом и аллохан-ом Wistar пацова инфицираних ешерихијом (*Escherichia coli*)“ мр Маје Мапојловић, констатује да иста испуњава све претпоставке оригиналног научног рада, па са задовољством предлаже Наставно-научном вијећу Природно-математичког факултета и Сенату Универзитета у Бањој Луци да прихвати позитивни извјештај и кандидаткињи омогући јавну одбрану.

**ПОТПИС ЧЛАНОВА КОМИСИЈЕ**

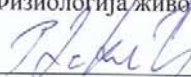
1. др Свјетлана Лолић, доцент, ужа научна област: Микробиологија, биологија ћелије, председник;

  
\_\_\_\_\_

2. др Ивица Радовић, редовни професор, ужа научна област: Екологија, биогеографија и заштита животне средине, ментор, члан;

  
\_\_\_\_\_

3. др Радослав Декић, ванредни професор ужа научна област: Физиологија животиња, ментор, члан;

  
\_\_\_\_\_

4. др Драгојла Голуб, доцент, ужа научна област: Зоологија, члан.

  
\_\_\_\_\_

ИЗДВОЈЕНО МИШЉЕЊЕ: Члан комисије који не жели да потпише извјештај јер се не слаже са мишљењем већине чланова комисије, дужан је да унесе у извјештај образложење, односно разлог због којих не жели да потпише извјештај.