

**УНИВЕРЗИТЕТ У КРАГУЈЕВЦУ
МЕДИЦИНСКИ ФАКУЛТЕТ
КРАГУЈЕВАЦ**

НАСТАВНО -НАУЧНОМ ВЕЋУ МЕДИЦИНСКОГ ФАКУЛТЕТА

Предмет: Оцена научне заснованости теме докторске дисертације

Одлуком Наставно-научног већа Медицинског факултета Универзитета у Крагујевцу, број 01-1325/2-1 од 26.03.2008. године, именовани су чланови комисије за оцену научне заснованости теме докторске дисертације мр ЈАСМИНЕ МИЛОВАНОВИЋ, под називом:

**"ПОПУЛАЦИОНА ФАРМАКОКИНЕТИКА АНТИЕПИЛЕПТИКА
У РАЗЛИЧИТИМ СТАРОСНИМ ГРУПАМА"**

Предложена Комисија у саставу:

1. Проф. др Милица Простран, председник
2. Проф. др Слободан Јанковић, потенцијални ментор
3. Проф. др Драган Миловановић, члан

На основу увида у приложену документацију подноси Наставно-научном већу Медицинског факултета у Крагујевцу следећи

ИЗВЕШТАЈ

I Биографски подаци

Кандидат мр Јасмина Миловановић, испуњава све услове предвиђене Законом о високом образовању (члан 30) и Статутом Медицинског факултета (члан 151) за израду докторске дисертације.

Лични подаци

Јасмина Миловановић рођена је 10.09.1968. године у Крагујевцу где је завршила основну и средњу школу. Године 1987. уписала је Молекуларну

биологију и физиологију (група Експериментална биомедицина) на Природно-Математичком факултету у Београду и дипломирала са просечном оценом 8.75.

Рад на Медицинском факултету у Крагујевцу започела је као волонтер 1998. године у Лабораторији за биомедицинска истраживања. Од 2001. године запослена је на наставном предмету Фармакологија и токсикологија Медицинског факултета у Крагујевцу као приправник на пословима истраживача а затим као стручни сарадник. Од 2004-2006. године радила је као истраживач приправник а од 2007. године ради у звању истраживач сарадник на истом наставном предмету.

Завршила је стручну обуку на Војномедицинској академији и од 2002. године ради ХПЛЦ анализе на Медицинском факултету у Крагујевцу.

У периоду од 2002-2005. године била је ангажована на пројекту Министарства за науку и заштиту животне средине, основна истраживања број 1246, под називом: “Транспорт биолошки активних молекула кроз биолошке мембране”.

Последипломске студије је похађала на Медицинском факултету у Крагујевцу у положила све програмом предвиђене испите са просечном оценом 10.00. Одбранила је магистарски рад из области фармакологије 13.11.2006. године под називом “Модел за одређивање клиренса карбамазепина и валпроата код пацијената на моно и политерапији”.

Трећу годину Докторских академских студија уписала је на Медицинском факултету у Крагујевцу на смеру Експериментална и клиничка фармакологија 2006. године.

Течно влада енглеским језиком а поседује и знање из различитих области рада на персоналним рачунарима.

Удата је и има једно дете.

Научно-истраживачки рад и списак објављених радова

Пројекти:

1. Пројекат Министарства за науку и заштиту животне средине, основна истраживања, број 1246 под називом: “Транспорт биолошки активних молекула кроз биолошке мембране”. Период: 2002-2005. године.

Научни радови објављени у целини у часописима међународног значаја:

1. Jankovic SM and **Milovanovic JR**. Pharmacokinetic Modeling of Valproate from Clinical Data in Serbian Epileptic Patients. *Methods Find Exp Clin Pharmacol* 2007; 29(10): 673-679.
2. **Milovanović JR** i Janković SM. Poblaciona farmakokinetika. *Vojnosanit Pregl* 2005; 62(11): 847-50.

3. Pantović B.S., Rosić L.G., Rosić A.M., Radosavljević M., Kojić M., **Milovanović J.**, Lučić P.A., Radovanović R.M., Zdravković S.V. Nov pristup biomehaničkim i funkcionalnim osobinama tkiva – nov dizajn primenjenog hardvera i softvera, Medicus, 2005, 6 (1): 18-20.

Научни радови објављени у целини у водећим часописима националног значаја:

1. **Milovanović JR** i Janković SM. Naša iskustva u terapijskom monitoringu lekova. Medicinski časopis 2006; 1-2: 19-23.

Научни радови саопштени на скуповима националног значаја штампани у изводима:

1. **Milovanović J**, Janković S. Naša iskustva u terapijskom monitoringu lekova. Medicinski časopis 2005; 39(1) Suppl. 1: 24-25. XXX oktobarski zdravstveni dani, Kragujevac, 27-28.10.2005.
2. **Milovanović JR**, Janković SM. Terapijski monitoring valproata. Medicinski časopis 2007; 41 (1) Suppl.1: 27-28. XXXII oktobarski zdravstveni dani, Kragujevac, 25-26.10.2007.
3. Jankovic S, **Milovanovic J**. Pharmacokinetic modelling of Valproate from clinical data in Serbian epileptic patients. XXII Serbian Congress of Pharmacology and II Serbian Congress of Clinical Pharmacology with International Participation, Palić, 09-12.05. 2007. Book of Abstracts, page 34.
4. Jakovljevic MB, Jankovic SM, **Milovanovic JR**, Jankovic S, Todorovic N. Modelling of Valproate pharmacokinetics in epileptic patients. XXII Serbian Congress of Pharmacology and II Serbian Congress of Clinical Pharmacology with International Participation, Palić, 09-12.05. 2007. Book of Abstracts, page 35.

II Подаци о предложеној теми

Предложена тема је из области Клиничке фармакологије, са посебним освртом на популациону фармакокинетику.

Предмет рада

Карбамазепин, валпроат и ламотригин су три најчешће коришћена антиепилептичка лека у нашој клиничкој пракси за лечење епилепсије. Сва три лека се могу користити за лечење парцијалних и генерализованих напада код деце и одраслих. Искуство из праксе говори да се карбамазепин најчешће користи за

лечење парцијалних напада, валпроат за лечење генерализованих напада док се ламотригин више користи као додатни антиепилептик.

Иако откривени давно, средином прошлог века, карбамазепин и валпроат су и даље једни од главних антиепилептичких лекова (АЕЛ) не само у нашој земљи већ и широм света у лечењу епилепсије. Разлог томе јесте јако добра ефикасност и безбедност ових лекова. С друге стране ламотригин припада новијој генерацији АЕЛ и регистрован је почетком деведестих година прошлог века. Најпре је уведен у клиничку праксу као додатна терапија у лечењу епилепсије док се са његовом применом у облику монотерапије кренуло нешто касније у свету и код нас.

Наведени антиепилептици се карактеришу високом интер- и интраиндивидуалном варијабилношћу у пацијената, појавом активних метаболита, уским терапијским распоном серумске концентрације, високим степеном протеинског везивања као високим потенцијалом за фармакокинетичким интеракцијама. С обзиром да њихова примена траје јако дуго, понекада и читав живот, и да сама болест данас обухвата 1% светске популације намеће се реална потреба да се за ове лекове изведе популациона фармакокинетичка анализа.

Данас су у литератури описане популационе фармакокинетичке студије наведених лекова у многим популацијама широм света. Тако је популациона фармакокинетика карбамазепина и валпроата извршена у шпанској, португалској, кинеској, јапанској, руској и многим другим популацијама и то како у општим тако и у специфичним популацијама пацијената са епилепсијом (дечијој и популацији одраслих). Када је реч о ламотригину до сада је описан мали број студија док се у нашој земљи ова анализа до сада није спроводила.

Основне предности популационе фармакокинетичке анализе и употребе софтверског пакета НОНМЕМ (Нелинеарно Комбиновање Мешовитих Ефеката) јесте употреба “ретких” података који се могу добити из рутинске клиничке праксе која се рутински спроводи у нашем Клиничком центру. Друга и веома важна карактеристика ове анализе јесте репрезентативност саме популације. Иако постоје подаци и студије које су изведене у другим популацијама то добијени резултати не могу имати конкретну употребу код наших пацијената. Специфичности сваке популације (генетички фактори, фактори средине, животне навике и квалитет живота, расне и демографске разлике) намећу потребу за спровођењем ових студија у свакој појединачној популацији.

Предмет рада овог истраживања јесте одређивање средњих, популационих вредности фармакокинетичких параметара (клиренса и волумена дистрибуције) наведених антиепилептичких лекова – карбамазепина и валпроата у специфичним популацијама (дечијој и популацији одраслих) и ламотригина у општој популацији пацијената са епилепсијом. Такође, други део истраживања за предмет рад има развијање популационих фармакокинетичких модела и процењивање ефеката различитих фактора на клиренс карбамазепина и валпроата у специфичним популацијама пацијената са епилепсијом (дечијој и популацији одраслих) и ламотригина у општој популацији пацијената са епилепсијом у Србији. Ове врсте студија до сада нису спровођене у нашој земљи.

Научни циљ докторске дисертације

1. Одређивање средњих, популационих вредности фармакокинетичких параметара (клиренса и волумена дистрибуције) антиепилептичких лекова који се најчешће користе у нашој клиничкој пракси – карбамазепина и валпроата у специфичним популацијама (дечијој и популацији одраслих) и ламотригина у општој популацији пацијената са епилепсијом.
2. Развијање популационог фармакокинетичког модела и процењивање ефеката различитих фактора на клиренс карбамазепина у специфичним популацијама пацијената са епилепсијом (дечијој и популацији одраслих) у српској популацији.
3. Развијање популационог фармакокинетичког модела и процењивање ефеката различитих фактора на клиренс валпроата у специфичним популацијама пацијената са епилепсијом (дечијој и популацији одраслих) у српској популацији.
4. Развијање популационог фармакокинетичког модела и процењивање ефеката различитих фактора на клиренс ламотригина у општој популацији пацијената са епилепсијом у Србији.

Основне хипотезе истраживачког рада

1. Претпоставља се да ће добијене вредности фармакокинетичких параметара одступати од вредности добијених за карбамазепин, валпроат и ламотригин у другим популацијама пацијената са епилепсијом.
2. Претпоставља се да ће добијени фармакокинетички модели за клиренс испитиваних лекова одступати од модела добијених у другим популацијама у свету.

Материјал и метод

А) Испитаници

Ова студија спада у групу серија случајева ("case series") који ће бити анализирани ретроспективно и проспективно. У студију ће бити укључени сви пацијенти са епилепсијом (болнички и ванболнички) чија је дијагноза постављена на основу клиничких и лабораторијских параметара од стране лекара специјалисте-неуролога Клиничког цетра у Крагујевцу, а за које њихов ординирајући лекар затражи терапијски мониторинг лека. Број потребних пацијената по старосној групи одређује статистичка значајност фармакокинетичког модела који ће се

добити обрадом резултата у НОНМЕМ програму и не може бити мањи од 35. Само пацијенти код којих је успостављено равнотежно стање лека могу чинити студијску групу. Узорци крви односно серума ће бити узети током рутинског мониторинга антиепилептичких лекова који се спроводи у Клиничком центру.

Контролну групу ће чинити пацијенти са епилепсијом који неће бити укључени у испитивану студијску групу и који ће чинити тзв. валидациони сет. Овај сет чини интерни стандард саме популационе фармакокинетичке анализе и служи да покаже предиктивне перформансе модела који се требају добити током процеса истраживања.

Од сваког испитаника или њихових рођака ће бити узети и забележени следећи демографски и медикациони подаци:

- старост
- пол
- телесна тежина
- телесна висина
- дужина примања лека
- укупна дневна доза
- дужина примања наведене дозе
- пратећа терапија
- време од узимања последње дозе лека до узимања узорка крви

Б) Узимања узорка крви и издвајање серума

Од испитаника ће бити узето око 5мл крви венепункцијом, а затим ће центрифугирањем 5 минута на 3000 обртаја у минути бити издвојен серум. Серумски узорци ће бити одмах анализирани или замрзнути на -20°C до испитивања. Поступак ће се спроводити у Служби за клиничку фармакологију Клиничког центра у Крагујевцу.

В) Одређивање концентрације карбамазепина и ламотригина

Мерење концентрације карбамазепина и ламотригина ће бити извршена помоћу успостављене ХПЛЦ методе у аналитичкој лабораторији Катедре за фармакологију и токсикологију Медицинског факултета у Крагујевцу. Инструментација је сачињена од: Chrompack пумпе, UV-VIS Chrompack детектора и Spectra physics интегратора. Поступак екстракције и сепарације карбамазепина је раније детаљно описан (17). Екстракција ламотригина се изводи течно-течном екстракцијом са етилацетатом где се након упаравања органског слоја екстраховани лек реконституише у мобилној фази сачињеној од воде, ацетонитрила и метанола у односу 55:25:20. Запремина узорка која се ињектује у систем је 20 микролитара, док се сепарација врши на XTerra™ аналитичкој колони (4,6x250 mm). Брзина протока мобилне фазе је 1 мл/мин а таласна дужина за детекцију 306 нанометара. На основу калибрационе криве конструисане на основу познатих

концентрација ламотригина (у распону њене линеарности) одређује се концентрација ламотригина у серумским узорцима.

Г) Одређивање концентрације валпроата

Концентрације валпроата у серуму ће бити одређене техником флуоресцентне поларизационе имуноанализе (FPIA; TDx , Abbott лабораторија) у лабораторији Катедре за фармакологију и токсикологију Медицинског факултета у Крагујевцу.

Д) Фармакокинетичка и статистичка анализа

Прикупљени подаци од пацијента се најпре морају унети по жељеном редоследу у Нотепад програм. Након тога се приступа софтверској анализи података уз употребу НОНМЕМ програма. Овај програм као и поступак како се изводи популациона фармакокинетичка анализа је раније детаљно описан (14). Из НОНМЕМ библиотеке биће селектоване субрутине које дефинишу модел са једним одељком који најбоље описује фармакокинетичку испитиваних лекова.

Основни статистички критеријум који овај програм користи јесте минимална објективна функција (МОФ). МОФ се дефинише као негативни двоструки логаритам вероватноће, где се током процеса изградње пуног модела уз појединачно испитивање сваког фактора тражи статистички значајна разлика МОФ-а од 3.841 ($\chi^2=3.841$, $P<0.05$, $df=1$). Потом следи процес обрнутог избацавања фактора или параметара који су градили пуни модел уз строжије статистичке захтеве - разлика МОФ-а између регресионих модела у овом процесу мора да је већа од 6.6 ($\chi^2=6.6$, $P<0.01$, $df=1$). На тај начин се долази до коначног модела који у математичком смислу описује једначину клиренса испитиваних лекова.

Процене фармакокинетичких параметара у испитиваној популацији ће се употребом наведеног софтвера најпре добити за тзв. базни модел (без испитивања утицаја појединих фактора). Затим следи процес униваријатне селекције где се појединачно испитује утицај сваког фактора (телесне масе, висине, старости пацијената, пола, укупне дневне дозе испитиваног лека као и утицај пратеће терапије) уз примену наведених статистичких критеријума. Потом се само они фактори који су задовољили статистичку значајност истовремено убацују градећи на тај начин пун модел. Процесом уназадне делеције уз примену строжијих статистичких захтева долази се до коначног фармакокинетичког модела клиренса испитиваних лекова. То значи да ће се у форми математичких једначина добити величина утицаја само оних фактора који стварно одређују и описују клиренс ових лекова у нашој популацији.

За процену предиктивних перформанси и валидности фармакокинетичких модела испитиваних лекова користи се валидациони сет за сваки лек појединачно. Може се рећи да је то интерни стандард саме анализе или контролне групе на којима ће се показати да ли су добијени модели добри, предвидљиви и примењиви за клиничку употребу.

Током извођења анализе добијају се процене средњих популационих вредности клиренса и волумена дистрибуције испитиваних лекова, величине интер- и интраиндивидуалне варијабилности у испитиваној популацији, као и величине предиктивних грешака (18), које служе за процену биаса и прецизности добијених модела.

Очекивани резултати и значај студије

На основу добијених резултата претпоставља се да ће се добити средње популационе вредности клиренса и волумена дистрибуције испитиваних лекова као и величина интра- и интериндивидуалне варијабилности у различитим старосним групама наше популације пацијената са епилепсијом. Добијени фармакокинетички модели требало би да прецизно опишу који фактори и у коликој мери утичу на клиренс ових лекова. Добијањем одговарајућих једначина ствара се могућност да се предвиди оптимална доза испитиваних антиепилептичких лекова за сваког пацијента са епилепсијом. Индивидуализација дозних режима је основа и циљ рационалне фармакотерапије посебно када је реч о лековима који се дуготрајно или хронично користе у терапији.

Ово би биле прве фармакокинетичке студије карбамазепина и валпроата које би се спровеле у специфичним популацијама (дечијој и популацији одраслих) и ламотригина у опшој популацији пацијената са епилепсијом у Србији.

III Закључак и предлог комисије

ЗАКЉУЧАК

1. На основу досадашњег научно-истраживачког рада и публикованих радова кандидат мр Јасмина Миловановић испуњава све услове за одобрење теме и израду докторске дисертације.
2. Предложена тема је научно оправдана, дизајн истраживања је прецизно постављен и дефинисан, методологија је јасна.
3. Комисија сматра да ће предложена докторска теза мр Јасмине Миловановић под менторством проф. др Слободана Јанковића бити од великог научног и практичног значаја у области оптимизације индивидуалног дозирања три најчешће коришћена антиепилептичка лека у клиничкој пракси у пацијената са епилепсијом у Србији.
4. Комисија са задовољством предлаже Наставно-научном већу Медицинског факултета у Крагујевцу да прихвати тему докторске дисертације кандидата мр Јасмине Миловановић под називом **"ПОПУЛАЦИОНА ФАРМАКОКИНЕТИКА АНТИЕПИЛЕПТИКА У РАЗЛИЧИТИМ СТАРОСНИМ ГРУПАМА"**

Предлог ментора

За ментора рада, Комисија предлаже проф. др Слободана Јанковића, редовног професора Медицинског факултета у Крагујевцу за уже научне области Фармакологија и токсикологија и Клиничка фармација.

КОМИСИЈА

Председник комисије
Проф. др Милица Простран
Редовни професор Медицинског факултета Универзитета у Београду
Ужа научна област: Клиничка фармакологија, Фармакологија и
токсикологија

Проф. др Слободан Јанковић, потенцијални ментор
Редовни професор Медицинског факултета Универзитета у Крагујевцу
Ужа научна област: Фармакологија и токсикологија, Клиничка фармација

Проф. др Драган Миловановић, члан
Ванредни професор Медицинског факултета Универзитета у Крагујевцу
Ужа научна област: Фармакологија и токсикологија

У Крагујевцу,
28.03.2008.