

NAUČNOM VEĆU MEDICINSKOG FAKULTETA
UNIVERZITETA U BEOGRDU

Na sednici Naučnog veća Medicinskog fakulteta u Beogradu, održanoj dana 15.03.2018.godine, broj 5940/15, imenovana je komisija za ocenu završene doktorske disertacije pod naslovom:

„Faktori od značaja za farmakokinetiku Ciklosporina A kod dece sa transplantiranim bubregom “

kandidata dr Mirjane Cvetković, zaposlene u Službi nefrologije Univerzitetske dečje klinike u Beogradu. Mentor je Prof. dr Mirjana Kostić.

Komisija za ocenu završene doktorske disertacije imenovana je u sastavu:

1. Prof. dr Višnja Ležaić, profesor Medicinskog fakulteta u Beogradu
2. Prof. dr Radomir Naumović, profesor Medicinskog fakulteta u Beogradu
3. Naučni savetnik, dr Maja Živković, naučni savetnik Instituta za nuklearne nauke „Vinča”

Na osnovu analize priložene doktorske disertacije, komisija za ocenu završene doktorske disertacije jednoglasno podnosi Naučnom veću Medicinskog fakulteta sledeći

IZVEŠTAJ

A) Prikaz sadržaja doktorke disertacije

Doktorska disertacija dr Mirjane Cvetković napisana je na ukupno 105 strana i podeljena je na sledeća poglavlja: uvod, ciljevi rada, materijal i metode, rezultati, diskusija, zaključci i literatura. U disertaciji se nalazi ukupno 23 tabele i pet grafikona. Doktorska disertacija sadrži sažetak na srpskom i engleskom jeziku, biografiju kandidata, podatke o komisiji i spisak skraćenica korišćenih u tekstu.

U **uvodu** je istaknut značaj transplantacije bubrega kao najpoželjnijeg metoda lečenja pedijatrijskih pacijenata sa terminalnom bubrežnom insuficijencijom. Objašnjene su specifičnosti transplantacije bubrega i postransplantacionog toka kod pedijatrijskih pacijenata u odnosu na adultnu populaciju. Na adekvatan način je navedena terapija koja se primenjuje u cilju prevencije odbacivanja transplantiranog organa uz kratak osvrt na istorijski razvoj transplantacije i imunosupresivnih lekova. Detaljno je objašnjen značaj Ciklosporina A (CsA) u transplantacionoj medicini, mehanizam njegovog dejstva i navedeni neželjeni efekti koje

izaziva. Naglašeno je da neki pacijenti piju veću, a neki manju dozu leka u cilju održavanja njegove adekvatne koncentracije u krvi, čime se izbegavaju akutna kriza odbacivanja, koja je posledica niske koncentracije leka, sa jedne strane, i neželjeni efekti leka koji su posledica njegove visoke koncentracije u krvi, sa druge strane. Navedena su dosadašnja saznanja o faktorima koji utiču na farmakokinetiku Ciklosporina A, sa posebnim osvrtom na uticaj biološkog razvoja detetovog organizma i genetičkih faktora tj. polimorfizama u genima za ABCB1 (rs1045642), CYP3A5 (rs776746), CYP3A4 (rs35599367) i POR (rs1057868). Apostrofiran je značaj farmakogenetičkih multicentričnih studija, koje mogu doprineti individualnom doziranju CsA, u zavisnosti od farmakogenetičkog profila i uzrasta pacijenta.

Ciljevi rada su precizno definisani: 1. da se utvrdi frekvencija alela i genotipova polimorfizama u genima za ABCB1 (rs1045642), CYP3A5 (rs776746), CYP3A4 (rs35599367) i POR (rs1057868) kod pedijatrijskih pacijenata sa transplantiranim bubregom u Srbiji, 2. da se ispita uticaj uzrasta pacijenta, kao nezavisnog faktora, na farmakokinetiku CsA tokom prve godine nakon transplantacije, 3. da se ispita uticaj polimorfizama u genima za ABCB1 (rs1045642), CYP3A5 (rs776746), CYP3A4 (rs35599367) i POR (rs1057868) na farmakokinetiku CsA kod pedijatrijskih pacijenata sa transplantiranim bubregom u Srbiji, tokom prve godine nakon transplantacije, 4. da se ispita uticaj polimorfizama u genima za ABCB1 (rs1045642), CYP3A5 (rs776746), CYP3A4 (rs35599367) i POR (rs1057868) u zavisnosti od uzrasta pacijenta, na farmakokinetiku CsA kod pedijatrijskih pacijenata sa transplantiranim bubregom u Srbiji, tokom prve godine nakon transplantacije.

U poglavlju **materijal i metode** je navedeno da se radi o kohortnoj studiji koja je sprovedena na Univerzitetskoj dečjoj klinici u Beogradu. Objasnjeni su kriterijumi za uključenje i za isključenje ispitanika iz studije, kao i protokol imunosupresivne terapije. U studiju je uključeno 47 pacijenata kojima je transplantiran bubreg u periodu od 2001-2015 godine. Krv za određivanje nivoa CsA u krvi, pre jutarnje doze leka (C_0) i dva sata posle jutarnje doze leka (C_2), uzimana je na redovnim kontrolama jedan, tri, šest i dvanest meseci posle transplantacije bubrega. Tada su beleženi i sledeći bazični podaci: uzrast, pol, telesna težina, redovna terapija koju pacijent uzima, vreme proteklo od transplantacije bubrega. U Laboratoriji za radiobiologiju i molekularnu genetiku, Instituta za nuklearne nauke "Vinča" detektovani su sledeći polimorfizmi u genima za ABCB1 (rs1045642), CYP3A5 (rs776746), CYP3A4 (rs35599367) i POR (rs1057868). Krv za genetske analize uzeta je tokom praćenja pacijenata, kada je rađena venepunkcija iz kliničkih razloga. Studija je sprovedena u skladu sa Helsinškom deklaracijom, a odobrena je i od strane Etičkog komiteta, Medicinskog fakulteta,

univerziteta u Beogradu. Roditelji ili zakonski staratelji pacijenata su dali pisani pristanak za uključenje u studiju.

U poglavlju **rezultati** detaljno su opisani i jasno predstavljeni svi dobijeni rezultati.

Diskusija je napisana jasno i pregledno, uz prikaz podataka drugih istraživanja sa uporednim pregledom dobijenih rezultata doktorske disertacije.

Zaključci sažeto prikazuju najvažnije nalaze koji su proistekli iz rezultata rada.

Korišćena **literatura** sadrži spisak od 228 referenci.

B) Kratak opis postignutih rezultata

U grupi ispitanih pedijatrijskih pacijenata sa transplantiranim bubregom 26% su bili nosioci češćeg alela polimorfizma rs1045642 u genuza ABCB1. Homozigotnih nosioca polimorfnog alela je bilo 21%, dok je heterozigotnih nosioca polimorfnog alela bilo 53%. Frekvencija češćeg alela je bila 0,52, a polimorfnog alela 0,48. U ispitanoj grupi pacijenata nije bilo homozigota za alel CYP3A5*1 polimorfizma rs776746u genu za CYP3A5, koji omogućava metabolisanje lekova iako je ređe prisutan alel. Heterozigotni nosioci polimorfnog alela CYP3A5*3 su bili zastupljeni sa 13%, a homozigoti za polimorfni alel sa 87 %. Frekvencija predačkog, ali ređeg alela je bila 0,06 a polimorfnog alela 0,94. U ispitanoj grupi pacijenata nije bilo homozigotnih nosioca polimorfnog alela polimorfizma rs-35599367 u genu za CYP3A4. Homozigoti za češći alel CYP3A4*1 su bili zastupljeni sa 94%, dok je kod 6% pacijenata detektovan polimorfni alel CYP3A4*22 u heterozigotnom obliku. Frekvencija češćeg alela je bila 0,96, a polimorfnog alela 0,04. U ispitanoj grupi pacijenata bilo je 42% homozigota za češći alel polimorfizma rs1057868 u genu za POR. Homozigotnih nosioca polimorfnog alela POR*28 je bilo 13%, dok je heterozigotnih nosioca polimorfnog alela bilo 45%. Frekvencija češćeg alela je bila 0,65, a polimorfnog alela 0,35. Nosioci polimorfnog alela T u genu za ABCB1 (rs1045642) su statistički značajno češće primali dozu CsA <4 mg/kgTT u odnosu na homozigote alela C (95% vs. 50%, p=0,005). Nosioci polimorfnog alela *28 u genu za POR (rs1057868) su statistički značajno češće primali dozu CsA >6 mg/kgTT u odnosu na homozigote za alel *1 (94% vs. 62%, p=0.03) . Pedijatrijski pacijenti uzrasta do 6 godina su zahtevali značajno veću dozu leka za postizanje adekvatnih nivoa CsA u krvi u odnosu na pacijente uzrasta preko 6 godina (7.12±1.56 vs 4.91 ±1.75, p=0,001), što je praćeno značajno manjim odnosom C₀/D (18.82±4.72 vs 34.19±11.8, p=0,001) i C₂/D (106.75±26.99 vs 209.20±71.57, p<0.001). Pacijenti sa genotipom *3/*3 (CYP3A5

neekspresori) polimorfizma rs776746 u genu za CYP3A5 su imali značajno veće ukupne C_0/D u odnosu na grupu pacijenata sa genotipom *1*3 (CYP3A5 ekspresori) ($p=0,01$). Multivarijantnom analizom je utvđen nezavistan značajan obrnuto proporcionalan efekat uzrasta ($p<0.001$) i značajan efekat POR*28 polimorfizma u genu za POR ($p=0.04$) na ukupnu dnevnu dozu CsA, dok su uzrast ($p<0.001$) i genotip sa alelom CYP3A5*1 polimorfizma rs776746 u genu za CYP3A5 ($p=0.02$) imali značajan efekat na ukupni odnos C_0/D . Detektovan je nezavistan značajan proporcionalan efekat uzrasta ($p<0.001$) i značajan efekat genotipa sa alelom POR*28 polimorfizma rs1057868 u genu za POR ($p=0.03$) na ukupni odnos C_2/D . U grupi pacijenata mladih od 6 godina utvrđen je nezavistan značajan efekat genotipova sa alelom POR*28 polimorfizma rs1057868 u genu za POR ($p=0.012$), genotipova sa alelom T polimorfizma rs1045642 u genu za ABCB1 ($p=0.04$) i genotipova sa alelom CYP3A5*1 polimorfizma rs776746 u genu za CYP3A5 ($p=0,006$) na ukupni odnos C_2/D , dok u grupi pacijenata starijih od 6 godina nisu detektovani značajni efekti ispitanih polimorfizama.

C) Usporedna analiza doktorske disertacije sa rezultatima iz literature

Frekvencije alela i genotipova polimorfizama u genima za ABCB1 (rs1045642), CYP3A5 (rs776746), CYP3A4 (rs35599367) i POR (rs1057868) kod dece sa transplantiranim bubregom u Srbiji su u skladu sa frekvencijama u ostalim populacijama u Evropi (Felipe CR i sar., 2009, Lamba JK i sar., 2002, Elens L i sar., 2013, Pandey AV i sar., 2014).

Rezultati ove studije nisu pokazali da genotip polimorfizma rs1045642 u genu za ABCB1 utiče na dnevnu dozu leka, niti na odnose C_0/D i C_2/D jedan, tri, šest i dvanest meseci nakon transplantacije bubrega. Međutim kada je ispitana raspodela pacijenata koji primaju dozu CsA $<4\text{mg/kgTT}$ i $> 6\text{ mg/kgTT}$ u odnosu na prisustvo polimorfnoeg alela polimorfizma rs1045642 u genu za ABCB1, pokazano je da u grupi pacijenata nosioca polimorfnoeg alela statistički značajno više ima onih koji su primali dozu CsA $<4\text{ mg/kgTT}$. Ovaj rezultat navodi na zaključak da nosioci bar jednog mutantnog T alela zbog manje funkcionalnog P-gp imaju smanjen efluks leka iz enetocita nazad u lumen creva što ima za posledicu povećanu resorpciju leka u cirkulaciju i samim tip potrebu za manjom dozom leka u cilju postizanja želejnog nivoa CsA u krvi. Prema podacima iz literature najveći broj studija nije pokazao značajan uticaj ovog polimorfizma na farmakokinetiku CsA (Hesselink DA i sar., 2003 Hesselink DA i sar., 2004, Loh PT i sar., 2008, Anglicheau D i sar 2004, von Ahsen N i sar., 2001, Haufroid V i sar., 2004, Min DI i sar., 2004, Qiu XY i sar., 2008, Chowbay B i sar.,

2003, Mai I i sar., 2003, Kuzuya T i sar., 2003), međutim, ima i oprečnih rezultata koji navode na mogućnost da je P-gp manje funkcionalan kod nosioca T alela, na osnovu veće reapsorpcije CsA tj. manjeg efluksa leka nazad u lumen creva (Bonhomme Faivre L i sar., 2004, Hu YF i sar 2006, Azarpira N i sar., 2006).

Analizom rezultata, utvrđeno je da polimorfizam u genu za CYP3A5 (rs776746) značajno utiče na odnos ukupne C_0/D . Grupa pacijenata CYP3A5 neekspresora (genotip *3/*3) imala je značajno veće ukupne C_0/D u odnosu na grupu pacijenata CYP3A5 ekspresora (genotip *1/*3), što je praćeno potrebom za većom dnevnom dozom leka kod CYP3A5 ekspresora, ali ovaj rezultat nije dostigao statističku značajnost. U ovoj studiji nije pokazano očekivano manji ukupni odnos C_2/D kod CYP3A5 ekspresora, što je očekivano na osnovu rezultata iz literature. Moguće objašnjenje je da u prva dva sata posle uzimanja leka, na metabolizam CsA, u velikoj meri utiče proces reapsorpcije CsA iz digestivnog trakta, a da enzimi CYP3A familije imaju veći udeo na metabolizam leka u kasnijem toku. Multivarijantnom regresionom analizom u koju su uključeni svi faktori ispitani u ovoj studiji (uzrast i polimorfizmi u genima za ABCB1, CYP3A5, CYP3A4 i POR) je potvrđen nezavistan efekat genotipa sa alelom CYP3A5*1 polimorfizma u genu za CYP3A5 na farmakokinetiku CsA tj. odnos ukupne C_0/D . Određeni broj studija dostupnih u literaturi nije potvrdio značaj ovog polimorfizma za farmakokinetiku CsA (Chu XM i sar., 2006, Zhao Y i sar., 2005, Loh PT i sar., 2008, Anglicheau D i sar., 2004, Hesselink DA i sar., 2003), dok su druge ukazale na njegov izuzetan značaj (Hu YF i sar., 2006, Qiu XY i sar., 2008) Mali broj studija koji je ispitivao uticaj ovog polimorfizma na farmakokinetiku kalcineurin inhibitora kod dece je takođe pokazuje kontradiktorne rezultate. Pedijatrijski pacijenti sa transplantiranim srcem, CYP3A5 ekspresori, zahtevali su veću dozu Takrolimusa (Tac) u poređenju sa CYP3A5 neekspresorima tri, šest i dvanest meseci posle transplantacije (Zheng H i sar., 2003). Takođe, pedijatrijski pacijenti sa transplantiranim bubregom, CYP3A5 ekspresori, su imali brži klirens Tac u poređenju sa CYP3A5 neekspresorima (Zhao W i sar., 2009), kao i potrebu za većim dozom leka, što je praćeno nižim odnosom C/D (de Wildt SN i sar., 2011). Sa druge strane, Turolo S i sar., kod pedijatrijskih pacijenata sa transplantiranim bubregom i Wildt i sar., kod pedijatrijskih pacijenata sa transplantiranom jetrom, nisu ukazali na značaj ovog polimorfizma u pogledu farmakokinetike kalcineurin inhibitora (Turolo S i sar. 2010, de Wildt SN i sar., 2011).

Ovo je prva studija koja je ispitivala uticaj polimorfizma rs35599367 u genu za CYP3A4 na farmakokinetiku CsA kod pedijatrijskih pacijenata sa transplantiranim bubregom. Nije

dokazano da ovaj polimorfizam utiče na dnevnu dozu leka, niti na odnose C_0/D i C_2/D mesec dana, tri meseca, šest meseci i godinu dana nakon transplantacije bubrega. Međutim, ne sme se izgubiti iz vida da u grupi ispitivanih pacijenata nije bilo homozigotnih nosioca ovog polimorfizma, a da su samo 3 pacijenta bili heterozigotni nosioci polimorfnog alela. Prve studije koje su se bavile uticajem ovog polimorfizma na farmakokinetiku kalcineurin inhibitora su ukazale da pacijenti sa transplantiranim bubregom, nosioci jednog ili dva T alela zahtevaju značajno niže doze Tac i CsA za postizanje adekvate koncentracije leka u krvi u odnosu na nosioce CC genotipa (Elens L i sar., 2011). Lunde I i sar. su potvrdili značaj ovog polimorfizma u pogledu farmakokinetike kalcineurin inhibitora. Pacijenti sa transplantiranim bubregom, nosioci CYP3A4*22 alela, su zahtevali značajno manju dozu CsA za postizanje adekvatne vrednosti C_2 nivoa CsA u krvi. Univarijantna analiza je utvrdila da CYP3A4*1/*22 heterozigoti imaju 50% veći odnos C_2/D u poređenju sa CYP3A4*1/*1 homozigotima. Multivarijantna analiza je potvrdila nezavistan efekat CYP3A4*22 alela na farmakokinetiku CsA sa 53% višim odnosom C_2/D kod nosioca varijantnog alela u poređenju sa nosiocima „wild-type” alela (Lunde I i sar., 2014). Kada govorimo o pedijatrijskim pacijentima Gijssen VM i sar su potvrdili uticaj ovog polimorfizma na farmakokinetiku Tac posle transplantacije srca. Nosioci bar jednog polimorfnog alela su zahtevali 30% nižu dozu Tac u poređenju sa „wild type” homozigotima (Gijssen VM i sar., 2013).

Rezultati ove studije, nisu pokazali da polimorfizam rs1057868 u genu za POR utiče na dnevnu dozu CsA, C_0/D i C_2/D tokom prve godine nakon transplantacije. Međutim, multivarijantna regresiona analiza u koju su uključeni svi faktori ispitivani u ovoj studiji (uzrast i polimorfizme u genima za CYP3A4, CYP3A5, POR i ABCB1) je ukazala na granično značajan efekat genotipa sa aleleom POR*28 polimorfizma u genu za POR na ukupnu dnevnu dozu leka i njegov značajan efekat na ukupni odnos C_2 /doza. Takođe, ispitivanjem raspodele pacijenata koji su primali dozu CsA $< 4\text{mg/kgTT}$ i $> 6\text{ mg/kgTT}$ u odnosu na prisustvo polimorfnog alela polimorfizma rs1057868 u genu za POR utvrđeno je da u grupi pacijenata nosioca polimorfnog alela statistički značajno ima više onih koji su primali dozu CsA $> 6\text{ mg/kgTT}$, što navodi na zaključak da ovi pacijenti imaju pojačanu aktivnost CYP3A familije enzima. Elens L i sar. su prvo razmatrali uticaj ovog polimorfizma nezavisno od polimorfizama CYP3A4 i CYP3A5 gena kod pacijenata sa transplantiranim bubregom na terapiji Tac i CsA. Nisu ukazali na njegov značaj u pogledu farmakokinetike Tac. Pacijenti na terapiji CsA homozigotni nosioci polimorfnog alela su imali 15,1% manji odnos C_0/D u poređenju sa heterozigotnim nosiocima polimorfnog alela i homozigotnim nosiocima “wild-type” alela (

Elens L (2) i sar., 2013). Lunde i sar. su takođe, ispitivali uticaj ovog polimorfizma na farmakokinetiku CsA i Tac kod adultnih pacijenata sa transplantiranim bubregom. Pokazano je da postoji tendencija ka nižim vrednostima odnosa C/D kod pacijenata na terapiji Tac nosioca bar jednog polimorfnog POR*28 alela u odnosu na homozigotne nosioce "wild-type" genotipa. Nije pokazano da POR*28 alel ima statistički značajan uticaj na odnos CsA C₂/D. Značaj ovog polimorfizma na farmakokinetiku kalcineurin inhibitora pokazana je u kombinaciji sa polimorfizmom CYP3A5 gena. Naime CYP3A5 ekspresori nosioci jednog ili dva POR*28 alela su zahtevali veću dozu Tac u poređenju sa CYP3A5 ekspresorima koji nisu bili nosioci POR*28 alela (De Jonge H i sar., 2011).

Rezultati dobijeni u ovoj studiji su pokazali da mlađi pacijenti (uzrast do 6 godina) zahtevaju statistički značajno veću dozu CsA, za potizanje adekvatnih nivoa leka u krvi, jedan, tri, šest i dvanest meseci posle transplantacije, što je praćeno statistički značajno manjim odnosom C₀/D jedan, tri i šest meseci posle transplantacije i C₂/D jedan, tri, šest i dvanest meseci posle transplantacije, u odnosu na grupu starijih pacijenata (> 6 godina). Odnos C₀/D godinu dana nakon transplantacije je takođe bio manji kod mlađih u odnosu na starije pacijente, ali ovaj rezultat nije dostigao statističku značajnost. Multivarijanatna regresiona analiza u koju su uključeni svi faktori ispitani u ovoj studiji (uzrast i polimorfizme u genima za CYP3A4, CYP3A5, POR i ABCB1) je potvrdila da uzrast pacijenta, sa graničnom vrednošću od 6 godina, predstavlja nezavistan značajan faktor koji utiče na dozu CsA, odnos C₀/D i C₂/D. Ovi rezultati su u skladu sa podacima iz literature. Pedijatrijski pacijenti sa transplantiranom jetrom, bubregom ili matičnim ćelijama eritropoeze zahtevaju veću dozu kalcineurin inhibitora, u odnosu na adulte, za postizanje adekvatne koncentracije leka u krvi (Cooney GF i sar., 1997, Staatez CE i Tett SE, 2004). Unutar populacije pedijatrijskih pacijenata, takođe, je dokazano da uzrast pacijenta utiče na farmakokinetiku ove grupe lekova. Dokazan je viši klirens Tac kod dece mlađe od 6 godina posle transplantacije jetre, bubrega i matičnih ćelija hematopoeze (Przepiorka D i sar., 2000, Kim JS i sar., 2005, MacFarlane GD i sar., 2001, Jain AB i sar., 1991). Fanta i sar. su zaključili da pacijenti uzrasta do 8 godina zahtevaju 25% veću dozu CsA u poređenju sa starijim pedijatrijskim pacijentima (Fanta S i sar., 2007). Mochon M i sar su pokazali da je klirens CsA kod pacijenata, posle transplantacije bubrega, uzrasta 2-5 godina viši, što je zahtevalo i veću dozu leka, u odnosu na pacijente uzrasta preko 10 godina (Mochon M i sar., 1996).

Izvestan broj studija je ukazao na značaj farmakogenetskih ispitivanja kod dece u kontekstu biološkog razvoja (Fanta S i sar., 2001, de Wildt SN i sar., 2011, Gijesen V i sar., 2011). Ovo

je prva farmakogenetska studija koja je ispitivala uticaj polimorfizama u genima za ABCB1 (rs1045642), CYP3A5 (rs776746), CYP3A4 (rs35599367) i POR (rs1057868) na dozu CsA, odnose C_0/D i C_2/D u zavisnosti od uzrasta dece sa transplantiranim bubregom. Nosioci CYP3A*3 alela uzrasta do 6 godina zahtevali su veću dozu CsA u odnosu na nosioce CYP3A5*3 alela uzrasta > 6 godina, što je praćeno nižim odnosom C_0/D i C_2/D . Kod CYP3A5 ekspresora nije pokazano da uzrast utiče na ispitivane parametre. Takođe je potvrđeno da nosioci POR*28 alela uzrasta ≤ 6 godina zahtevaju veću dozu CsA tri, šest i dvanest meseci posle transplantacije, što je praćeno statistički značajno nižim odnosom C_0/D tri i šest meseci posle transplantacije i nižim odnosom C_2/D jedan, tri i šest meseci posle transplantacije, u poređenju sa nosiocima POR*28 alela uzrasta > 6 godina. Ovi rezultati, na indirektan način, mogu ukazati da POR*28 alel uzrokuje ubrzanje metabolizma CsA, posredsvom, prvenstveno CYP3A4, a ne CYP3A5 enzima. Dalje, nosioci „wild-type” alela polimorfizma rs1045642 u genu za ABCB1, uzrasta do 6 godina zahtevali su statistički značajno veću dozu CsA, što je praćeno nižim odnosom C_0/D jedan, tri i šest meseci posle transplantacije bubrega i nižim odnosom C_2/D jedan, tri šest i dvanest meseci posle transplantacije, u odnosu na decu uzrasta preko 6 godina sa istim genotipom. Takođe je i odnos C_0/D 12 m posle transplantacije bio niži kod mlađih nosioca „wild-type” alela u odnosu na grupu starije dece sa istim genotipom, ali ovaj rezultat nije dostigao statističku značajnost. Iako se malo zna o uticaju ontogeneze na P-gp, očigledno je da kod nosioca bar jednog funkcionalnog alela, biološki razvoj tj. maturacija P-gp može igrati veliku ulogu u reapsorpciji CsA i njegovom metabolizmu. Pošto je pokazano da uzrast nezavisno utiče na sve farmakokinetičke parametre ispitane u ovoj studiji (doza leka, C_0/D i C_2/D) uradjena je multivarjantna regresiona analiza ispitivanih polimorfizama u ciljanim genima kod pacijenata uzrasta preko 6 godina i mlađih. Utvrđen je nazavistan značajan efekat genotipova sa alelom POR*28 polimorfizma u genu za POR, genotipova sa alelom T polimorfizma u genu za ABCB1 i genotipova sa alelom CYP3A5*1 polimorfizma u genu za CYP3A5 na ukupni odnos C_2/D kod mlađih pacijenata.

D) Objavljeni radovi koji čine deo doktorske disertacije

Mirjana Cvetković, Maja Živković, Maja Bundalo, Ivana Gojković, Brankica Spasojević-Dimitrijeva, Aleksandra Stanković, Mirjana Kostić. Effect of Age and Allele Variants of CYP3A5, CYP3A4, and POR Genes on the Pharmacokinetics of Cyclosporin A in Pediatric Renal Transplant Recipients From Serbia. Ther Drug Monit, 2017; 39(6):589-595.

E) Zaključak (obrazloženje naučnog doprinosa)

Doktorska disertacija „Faktori od značaja za farmakokinetiku Ciklosporina A kod dece sa transplantiranim bubregom“ dr Mirjane Cvetković, predstavlja originalni naučni doprinos u razumevanju uticaja uzrasta tj. biološkog razvoja deteta i farmakogenetike na farmakokinetiku Ciklosporina A. Ovo je prva farmakogenetska studija koja je ispitala uticaj polimorfizama u genima za ABCB1 (rs 1045642), CYP3A5 (rs776746), CYP3A4 (rs 35599367) i POR (rs1057868) na dozu i terapijske nivoe (C_0/D i C_2/D) CsA, a u zavisnosti od uzrasta transplantiranih bolesnika. Utvrđeno je da uzrast pacijenta, sa graničnom vrednošću od 6 godina, predstavlja nezavistan značajan factor koji utiče na sve farmakokinetičke parametre ispitivane u ovoj studiju (dozu CsA, odnos C_0/D i C_2/D). Pokazano je da su alelne varijante ispitanih polimorfizama u genima za ABCB1, CYP3A5 i POR značajno udružene sa farmakokinetikom CsA kod pedijatrijskih pacijenata sa transplantiranim bubregom. U cilju boljeg prilagođavanja terapije svakom pacijentu navedene faktore treba uzeti u obzir kao značajne modulatore terapijskog odgovora. Nedostatak ove studije je relativno mali broj pacijenata uključenih u istraživanje što je uobičajeno ograničenje ovakvih studija u svetu i nameće potrebu za multicentričnim pristupom.

Ova doktorska disertacija je urađena prema svim principima naučnog istraživanja. Ciljevi su bili precizno definisani, naučni pristup je bio originalan i pažljivo izabran, a metodologija rada je bila savremena. Rezultati su pregledno i sistematično prikazani i diskutovani, a iz njih su izvedeni odgovarajući zaključci.

Na osnovu svega navedenog, a imajući u vidu dosadašnji naučni rad kandidata, komisija predlaže Naučnom veću Medicinskog fakulteta Univerziteta u Beogradu da prihvati doktorsku disertaciju dr Mirjane Cvetković i odobri njenu javnu odbranu radi sticanja akademske titule doktora medicinskih nauka.

U Beogradu, 26.04.2018.

Članovi Komisije:

Prof. dr Višnja Ležaić

Prof. dr Radomir Naumović

Naučni savetnik dr Maja Živković

Mentor:

Prof. Dr Mirjana Kostić
