

УНИВЕРЗИТЕТ У КРАГУЈЕВЦУ
ФАКУЛТЕТ МЕДИЦИНСКИХ НАУКА
НАСТАВНО-НАУЧНОМ ВЕЋУ

1. Одлука Већа за медицинске науке Универзитета у Крагујевцу о формирању комисије за оцену завршене докторске дисертације

Веће за медицинске науке Универзитета у Крагујевцу, имајући у виду предлог Наставно-научног већа Факултета медицинских наука у Крагујевцу (одлука број 01-15595/3-23, од 28.12.2016.), на седници одржаној 18.01.2017. године донело је одлуку број IV-03-65/36 о формирању Комисије за оцену и одбрану завршене докторске дисертације под називом „**Утицај генског полиморфизма метаболичких ензима CYP3A5, CYP2C8 и CYP1A2 на ефикасност и безбедност терапије карбамазепином код деце**” кандидата др Драгане Драгаш Миловановић, у следећем саставу:

1. Проф. Др Слободан Обрадовић, редовни професор Факултета медицинских наука Универзитета у Крагујевцу за ужу научну област Педијатрија, председник;
2. Проф. др Гордана Тончев, ванредни професор Факултета медицинских наука Универзитета у Крагујевцу за ужу научну област Неурологија, члан;
3. Проф. др Драган Миловановић, редовни професор Факултета медицинских наука Универзитета у Крагујевцу за ужу научну област Фармакологија и токсикологија, члан;
4. Проф. др Јасмина Миловановић, ванредни професор Факултета медицинских наука Универзитета у Крагујевцу за ужу научну област Фармакологија и токсикологија, члан;
5. Проф. др Александар Рашковић, ванредни професор Медицинског факултета Универзитета у Новом Саду за ужу научну област Фармакологија са токсикологијом, члан.

Комисија је прегледала и проучила докторску дисертацију Драгане Драгаш Миловановић и подноси Наставно-научном већу следећи

ИЗВЕШТАЈ

2.1. Значај и допринос докторске дисертације са становишта актуелног стања у одређеној научној области

Докторска дисертација кандидата Драгане Драгаш Миловановић под називом „Утицај генског полиморфизма метаболишућих ензима CYP3A5, CYP2C8 и CYP1A2 на ефикасност и безбедност терапије карбамазепином код деце”, урађена под менторством проф. др Наташе Ђорђевић, ванредног професора Факултета медицинских наука Универзитета у Крагујевцу за ужу научну област Фармакологија и токсикологија, представља оригинално испитивање које се бави утврђивањем утицаја одређених генских полиморфизама метаболишућих ензима CYP3A5, CYP2C8 и CYP1A2, на концентрацију карбамазепина у крви по постизању равнотежног стања и проценом ефикасности и безбедности терапије карбамазепином у педијатријској популацији. Основна претпоставка студије је била да ефекти примене карбамазепина зависе и од генетског профила болесника, те би стога примена генотипизације пре почетка терапије могла да омогући прецизније дозирање лека, побољшање контроле напада као и смањење појаве нежељених ефеката лека, и то од самог почетка његове примене.

Карбамазепин се, иако антиконвулзив старије генерације, често користи у терапији парцијалних и генерализованих напада у Србији. У пракси, дозирање лека се врши током примене терапије, праћењем, с једне стране појава епилептичних напада и, с друге, нежељених дејстава лека. Полазећи од познатих чињеница о метаболизму

карбамазепина, у ком метаболишући ензими CYP3A5, CYP2C8 и CYP1A2 имају значајну улогу, познатим индивидуалним разликама у одговору на терапију, као у литератури и даље контроверзним ставовима о ефектима генског полиморфизма, ово истраживање је имало за циљ да утврди утицај појединих варијација *CYP3A5*, *CYP2C8* и *CYP1A2* гена на концентрацију карбамазепина у крви, као и на изабране параметре ефикасности и безбедности овог аниепилептика у нашој популацији.

Резултати досадашњих истраживања утицаја генског полиморфизма на метаболизам карбамазепина су углавном засновани на подацима из опште популације. Већина досадашњих клиничких студија обухватала је одрасле особе, уз потоњу екстраполацију података на педијатријску популацију. Међутим, познате су значајне разлике како у фармакогенетици, тако и у фармакокинетици и фармакодинамици лекова у дечијем узрасту. Стога је ова докторска дисертација у свом фокусу имала педијатријску групу пацијената, узраста од 2 до 20 година. Прикупљани су узорци за одређивање серумске концентрације карбамазепина у времену краја дозног интервала, пре узимања следеће дозе, а том приликом су прикупљани и узорци крви за генотипизацију. По истеку најмање четири недеље од евентуалног прилагођавања дозе лека, прикупљени су нови контролни узорци крви за испитивање концентрације лека у серуму, такође у времену краја дозног интервала. На основу овако прикупљених података испитиван је утицај варијација гена *CYP3A5*2* (g.27289C>A, rs28365083), *CYP3A5*3* (g.6986A>G, rs776746), *CYP2C8*3* (g.416G>A, rs11572080), *CYP2C8*5* (g.475delA, rs72558196), *CYP1A2*1F* (g.-163C>A, rs762551) и *CYP1A2*1C* (g.-3860G>A, rs2069514) на горе поменуте параметре.

Резултати овог истраживања дефинисали су заступљеност испитиваних генских полиморфизама у српској популацији, али и указали на одређени степен утицаја испитиваних генских варијација на концентрацију карбамазепина у крви у

педијатријској популацији. Иако утицај ни једног испитиваног полиморфизма на праћене параметре ефикасности и безбедности није доказан, описана је тенденција ка нижим потребним дозама, и вишим концентрацијама лека код хомозиготних *CYP3A5*3/*3* генотипова. Код носилаца *CYP2C8*3* варијације уочен већи ниво триглицерида, и тенденција ка нижим дневним дозама и вишим концентрацијама лека. Доказан је утицај $-163C>A$ (*CYP1A2*1F*) полиморфизма на фармакокинетику лека (код хомозиготних носилаца ове варијације уочена је значајна тенденција ка вишим дозама и нижим дозно-нормализованим серумским концентрацијама). Додатно дефинисање популационог фармакокинетичког модела клиренса карбамазепина на основу утицаја испитиваних фармакогенетских и демографских карактеристика пацијената издвојило је дневну дозу, пол, и испитивану *CYP1A2* варијацију као значајне факторе који утичу на клиренс овог лека.

Из свега горе наведеног Комисија закључује да је приложена докторска дисертација оригинални допринос у овој области неуронаука и фармакологије.

2.2. Оцена да је урађена докторска дисертација резултат оригиналног научног рада кандидата у одговарајућој научној области

Прегледом литературе и увидом у биомедицинске базе података „*PubMed*“, „*Scopus*“, и „*EBSCO*“, помоћу кључних речи „*CYP3A5*“, „*CYP2C8*“, „*CYP1A2*“, „*polymorphism*“, „*Serbian*“, „*epilepsy*“, „*carbamazepine*“, „*efficacy*“, „*safety*“, „*adverse effects*“ те њима одговарајући одредница у домаћој бази часописа „*SCIndeks*“, наилази се на ограничен број клиничких студија које се баве испитивањем утицаја генског полиморфизма на метаболизам карбамазепина. Досадашње студије већином обухватају одраслу популацију испитаника, различите етничке припадности, као и различите генске полиморфизме. Познато је да етничка припадност испитаника значајан фактор,

који може утицати на ефикасност и безбедност терапије карбамазепином, јер се учесталост варијација појединих гена и/или ефикасност ензима могу значајно разликовати међу популацијама. Ова студија је обухватила генске варијације које могу бити значајне у српској популацији, а чији утицај на концентрацију, ефикасност и безбедност терапије карбамазепином до сад није испитиван у српској педијатријској популацији.

На основу ових података, Комисија констатује да докторска дисертација кандидата Драгане Драгаш Миловановић под називом „Утицај генског полиморфизма метаболичких ензима CYP3A5, CYP2C8 и CYP1A2 на ефикасност и безбедност терапије карбамазепином код деце" представља резултат оригиналног научног рада.

2.3. Преглед остварених резултата рада кандидата у одређеној научној области

А. Лични подаци

Др Драгана Драгаш Миловановић је рођена 03. марта 1976. године у Београду. Медицински факултет Универзитета у Београду завршила је марта 2003. године. Од 2003. ради хонорарно у компанији *Ergomed Clinical Research Ltd.*, као координатор у клиничким испитивањима, и волонтира као клинички лекар у КБЦ „Земун“. Од 2005. запослена је у компанији “Ергомед д.о.о Нови Сад”, као сарадник у клиничким испитивањима (монитор), а од 2008. ради као пројект менаџер различитих фаза низа клиничких испитивања. Академске студије – изборно подручје – Неуронауке на Факултету медицинских наука Универзитета у Крагујевцу, уписала је 2009. године. Од 2014. године, запослена је као наставник практичне наставе на неколико претклиничких предмета у Високој здравственој школи струковних студија у Београду. Током 2015.

започела је специјалистичке студије из Клиничке биохемије на Медицинском факултету Универзитета у Београду, које су у току (3. година студија).

Б. Списак објављених радова (прописани минимални услов за одбрану докторске дисертације)

Кандидат, Драгана Драгаш Миловановић, је објавила већи број радова у научним часописа националног и међународног ранга од чега један рад као први аутор у часопису индексираном на *SCI* листи чији су резултати саставни део докторске дисертације, један рада као коаутор у часопису индексираном на *SCI* листи чији су резултати саставни део докторске дисертације и један рад као коаутор у часопису индексираном у међународним базама часописа, чиме је испунила услове за одбрану докторске дисертације.

1. **Milovanovic DD**, Milovanovic JR, Radovanovic M, Radosavljevic I, Obradovic S, Jankovic S, Milovanovic D, Djordjevic N. **The influence of CYP2C8*3 on carbamazepine serum concentration in epileptic pediatric patients.** Balkan J Med Genet 2016;19(1):21-28. doi: 10.1515/bjmg-2016-0003. M23, 3 бода.
2. Djordjevic N, **Milovanovic DD**, Radovanovic M, Radosavljevic I Obradovic S Jakovljevic M, Milovanovic D Milovanovic JR Jankovic S. **CYP1A2 genotype affects carbamazepine pharmacokinetics in children with epilepsy.** Eur J Clin Pharmacol. 2016;72(4):439-445. doi: 10.1007/s00228-015-2006-9. M23, 3 бода
3. **Milovanovic DD** Radosavljevic, I, Radovanovic M, Milovanovic, JR, Obradovic, S Jankovic S Milovanovic D, Djordjevic N. **CYP3A5 Polymorphism in Serbian paediatric epileptic patients on carbamazepine treatment.** Ser J Exp Clin Res 2015; 16(2): 93–99. doi: 10.1515/sjecr-2015-0012. M52, 1.5 бод.

2.4. Оцена о испуњености обима и квалитета у односу на пријављену тему

Назив докторске дисертације и приложеног истраживања се поклапају, као и одобрени циљеви истраживања и постављени циљеви у раду. Примењена методологија истраживања идентична је са одобреном. Докторска дисертација садржи следећа поглавља: Увод, Циљеви, Хипотезе и значај истраживачког питања, Материјал и методе, Резултати, Дискусија, Закључак, Литература и Прилог.

Рад садржи 19 табела, 7 слика и 6 графикана. У поглављу „Литература“ цитиране су 302 библиографске јединице научно-стручних публикација.

У УВОДУ изложена су кратко и прецизно, досадашња сазнања о утицају генског полиморфизма метаболишућих ензима *CYP3A5*, *CYP2C8* и *CYP1A2* на ефикасност и безбедност терапије карбамазепином код деце, уз употребу најсавременијих података из доступне литературе. Јасно и детаљно су изложени савремени ставови и сазнања о метаболизму лекова и фармакогенетском полиморфизму, дефиницији и класификацији епилепсија, као и епидемиологији и етиологији, и савременом терапијском приступу. Такође, кратко су презентовани актуелни ставови о фармакокинетици и фармакодинамици испитиваног лека, индикацијама, дозирању, контраиндикацијама, нежељеним ефектима и интеракцијама, са посебним освртом на фармакогенетику карбамазепина.

У делу ЦИЉЕВИ, ХИПОТЕЗЕ И ЗНАЧАЈ ИСТРАЖИВАЧКОГ ПИТАЊА јасно су дефинисани циљеви, који су обухватили испитивање утицаја варијација гена *CYP3A5* (rs28365083 и rs776746), *CYP2C8* (rs11572080 и rs72558196) и *CYP1A2* (rs762551 и rs2069514) на концентрацију карбамазепина у крви након постизања равнотежног стања, те на безбедност и ефикасност терапије, код педијатријских пацијената лечених од епилепсије, као и дефинисање популационог фармакокинетичког модела клиренса карбамазепина на основу утицаја фармакогенетских и демографских карактеристика

пацијената. Потом су кратко представљене хипотезе да варијабилност гена *CYP3A5*, *CYP2C8* и *CYP1A2* утиче на концентрацију, ефикасност и безбедност терапије карбамазепином, те да употреба алгоритма дозирања лека на основу фармакогенетских и демографских карактеристика пацијената може побољшати ефикасност и безбедност терапије. Додатно је указано је на значај овог истраживања, с обзиром на контроверзне ставове о ефектима генског полиморфизма, малом броју клиничких студија које се се бавиле сличним питањима, а обихватиле педијатријску популацију, као и непостојању сличних података у нешој популацији.

У делу МАТЕРИЈАЛ И МЕТОДЕ прецизно је наведена методологија примењена у истраживању, које је спроведено у виду интервентне, ретроспективно-проспективне клиничке студије IV фазе. Методама генотипизације (применом PCR методе комбинованој са рестрикцијом и алел-специфичном PCR методом), и методом високо специфичне течне хроматографије анализирани су узорци крви, прикупљени од педијатријских пацијената оболелих од епилепсије.

РЕЗУЛТАТИ истраживања су јасно и детаљно изнети и документовани низом табела (19), слика (7) и графикона (6). Утврђена је учесталост испитиваних варијација *CYP3A5*, *CYP2C8* и *CYP1A2* гена, која је износила је 97,5% за *CYP3A5*3*, 17,5% за *CYP2C8*3* и 65,0 % за *CYP1A2*1F*, док *CYP3A5*2*, *CYP2C8*5* и *CYP1A2*1C* нису детектовани. Анализа утицаја *CYP3A5*3* на фармакокинетику карбамазепина показала је да код хомозиготних носилаца варијантног алела постоји тенденција ка нижим дозама и вишим постигнутим концентрацијама лека. Додатно, код носилаца *CYP2C8*3* варијације уочена је тенденција ка нижим дневним дозама и вишим дозно нормализованим концентрацијама лека. Популациона фармакокинетичка анализа која је укључила *CYP2C8*3* показала је да на клиренс карбамазепина утичу пол и дневна доза лека, али не и испитивани *CYP2C8* полиморфизам. Корелација између дневне дозе

и постигнуте серумске концентрације лека утврђена је само у присуству *CYP1A2*1F* варијације, с тим што је код хомозиготних носилаца ове варијације уочена и тенденција ка вишим дозама и нижим дозно нормализованим серумским концентрацијама лека. Засебном популационом фармакокинетичком анализом, уз утицај пола испитаника и укупне дневне дозе лека, додатно је потврђен утицај *CYP1A2 -163A/A* генотипа, на клиренс карбамазепина. Анализа утицаја испитиваних полиморфизама на ефикасност и безбедност терапије карбамазепином није показала статистички значајне разлике у праћеним параметрима међу генотипски различитим групама.

У делу ДИСКУСИЈА детаљно су образложени резултати овог истраживања и поређени са доступним савременим подацима из ове области. Анализа добијених резултата је јасна и указује на значај даљег испитивања у циљу потврђивања могућих ефеката практичне примене генотипизације у побољшању ефикасности и безбедности карбамазепина не само код деце, већ и у општој популацији.

На основу предходно изнетих чињеница, комисија сматра да завршена докторска дисертација кандидата Драгане Драгаш Миловановић, под називом „**Утицај генског полиморфизма метаболишућих ензима CYP3A5, CYP2C8 и CYP1A2 на ефикасност и безбедност терапије карбамазепином код деце**” по обиму и квалитету израде у потпуности одговара пријављеној и одобреној теми дисертације.

2.5. Научни резултати докторске дисертације

Испитивањем утицаја генског полиморфизма метаболишућих ензима *CYP3A5*, *CYP2C8* и *CYP1A2* на ефикасност и безбедност терапије кармабазепином код деце, а на основу података презентованих у Резултатима и анализе у светлу савремених сазнања презентованих у Дискусији, истакнути су закључци овог истраживања, како следи:

1. заступљеност испитиваних полиморфизама гена *CYP3A5* (алели *2 и *3), *CYP2C8* (алели *3 и *5) и *CYP1A2* (алели *1C и *1F) у српској популацији је у складу са заступљеностима у другим до сад испитиваним популацијама белаца;
2. претпостављени ефекти *CYP3A5* полиморфизма на праћене параметре ефикасности и безбедности терапије карбамазепином нису доказани. Уочена је тенденција ка нижим потребним дозама и вишим концентрацијама код хомозиготних *CYP3A5**3/*3 у поређењу са хетерозиготним *CYP3A5**1A/*3 генотиповима. Ипак, за сада нема довољно клиничких доказа у корист увођења рутинске генотипизације испитиваних *CYP3A5* полиморфизама код деце српске популације на терапији карбамазепином;
3. претпостављени ефекти *CYP2C8* полиморфизма на праћене параметре ефикасности и безбедности терапије карбамазепином нису доказани. Код носилаца *CYP2C8**3 варијације уочен је већи ниво триглицерида, и тенденција ка нижим дневним дозама и вишим дозно нормализованим концентрацијама лека. Ипак, за сада нема довољно клиничких доказа у корист увођења рутинске генотипизације испитиваних *CYP2C8* полиморфизама код деце српске популације на терапији карбамазепином;
4. претпостављени ефекти *CYP1A2* полиморфизма на праћене параметре ефикасности и безбедности терапије карбамазепином нису доказани. Ипак, доказан је утицај -163C>A (*CYP1A2**1F) полиморфизма на фармакокинетику лека. Наиме, код хомозиготних носилаца ове варијације уочена је тенденција ка вишим дозама и нижим дозно-нормализованим концентрацијама. Притом, популациона фармакокинетичка анализа показала је значајан утицај *CYP1A2**1F/*1F генотипа на клиренс карбамезепина. Обзиром да је овај *CYP1A2* полиморфизам веома чест у српској популацији, рутинска генотипизација би

могла бити од користи код деце са епилепсијом за чије је лечење индикована примена карбамазепина.

2.6. Примењивост и корисност резултата у теорији и пракси

С обзиром на горе наведено Комисија оцењује да ова докторска дисертација даје нова и значајна сазнања о утицају генског полиморфизма метаболизућих ензима CYP3A5, CYP2C8 и CYP1A2 у примени карбамазепином код деце. На основу добијених резултата, а посебно доказаног значајног ефекта *CYP1A2*1F/*1F* генотипа, истакнут је могући значај примене рутинске генотипизације у побољшању ефеката терапије карбамазепином, те отворен простор за даља испитивања у овој области неуронаука и фармакологије.

2.7. Начин презентирања резултата научној јавности

Резултати овог истраживања су једним делом објављени у виду оригиналних радова у часописима од међународног значаја. Планирано је да и преостали резултати овог истраживања буду публиковани у неком од истакнутих часописа од међународног значаја и/или буду приказани на научним и стручним скуповима у форми постер или усмене презентације.

ЗАКЉУЧАК

На основу свега наведеног, Комисија за оцену завршене докторске дисертације кандидата Драгане Драгаш Миловановић, под називом **„Утицај генског полиморфизма метаболишућих ензима CYP3A5, CYP2C8 и CYP1A2 на ефикасност и безбедност терапије карбамазепином код деце”** сматра да је истраживање у оквиру одобрене тезе адекватно постављено и прецизно спроведено, и засновано на савременим сазнањима и валидној методологији.

Комисија закључује да докторска дисертација кандидата Драгане Драгаш Миловановић, под менторством проф. Др Наташе Ђорђевић, ванредног професора Факултета медицинских наука Универзитета у Крагујевцу за ужу научну област Фармакологија и токсикологија, представља оригинални научни допринос у испитивању утицаја генског полиморфизма на ефикасност и безбедност карбамазепина у педијатријској популацији.

Комисија са задовољством предлаже Наставно-научном већу Факултета медицинских наука Универзитета у Крагујевцу да докторска дисертација под називом **„Утицај генског полиморфизма метаболишућих ензима CYP3A5, CYP2C8 и CYP1A2 на ефикасност и безбедност терапије карбамазепином код деце”** кандидата Драгане Драгаш Миловановић буде позитивно оцењена и одобрена за јавну одбрану.

У Крагујевцу

ЧЛАНОВИ КОМИСИЈЕ

30.01.2017.

Проф. др Слободан Обрадовић, редовни професор Факултета медицинских наука Универзитета у Крагујевцу за ужу научну област Педијатрија, председник

Проф. др Гордана Тончев, ванредни професор Факултета медицинских наука Универзитета у Крагујевцу за ужу научну област Неурологија, члан

Проф. др Драган Миловановић, редовни професор Факултета медицинских наука Универзитета у Крагујевцу за ужу научну област Фармакологија и токсикологија, члан

Проф. др Јасмина Миловановић, ванредни професор Факултета медицинских наука Универзитета у Крагујевцу за ужу научну област Фармакологија и токсикологија, члан

Проф. др Александар Рашковић, ванредни професор Медицинског факултета Универзитета у Новом Саду за ужу научну област Фармакологија са токсикологијом, члан