

# FARMACEUTSKI FAKULTET, UNIVERZITET U BEOGRADU

## NASTAVNO-NAUČNOM VEĆU

### KOMISIJI ZA POSLEDIPLOMSKU NASTAVU - DOKTORSKE STUDIJE

Na osnovu odluke Nastavno-naučnog veća Farmaceutskog fakulteta, donete na sednici održanoj 20.09.2018. godine, imenovana je Komisija za ocenu i odbranu završene doktorske disertacije kandidata dipl. farm. spec. Bojane Golubović, pod naslovom: *Populacioni pristup farmakokinetičkoj analizi takrolimusa i sirolimusa u pacijenata sa transplantiranim bubregom.*

Komisija u sastavu:

1. Dr sc. Branislava Miljković - mentor rada, redovni profesor, Univerzitet u Beogradu - Farmaceutski fakultet
  2. Dr sc. Višnja Ležaić, redovni profesor, Klinika za nefrologiju, Klinički centar Srbije, Univerzitet u Beogradu - Medicinski fakultet
  3. Dr sc. Katarina Vučićević, vanredni profesor, Univerzitet u Beogradu - Farmaceutski fakultet
  4. Dr sc. Sandra Vezmar Kovačević, vanredni profesor, Univerzitet u Beogradu - Farmaceutski fakultet
  5. Dr sc. Sonja Vučković, redovni profesor, Univerzitet u Beogradu - Medicinski fakultet
- pregledala je priloženu disertaciju i podnosi sledeći

## IZVEŠTAJ

### 1. Prikaz sadržaja doktorske disertacije

Doktorska disertacija, pod naslovom *Populacioni pristup farmakokinetičkoj analizi takrolimusa i sirolimusa u pacijenata sa transplantiranim bubregom*, napisana je na 177 strana standardnog formata, ima 38 slika, 28 tabela, 152 literaturna navoda i 7 priloga. Tekst disertacije organizovan je u sledeća poglavlja: Uvodna razmatranja; Farmakometrija; Ciljevi

istraživanja; Metodologija istraživanja; Rezultati istraživanja; Diskusija; Zaključci; Literatura i Prilozi.

U okviru poglavlja *Uvodna razmatranja* dat je kratak pregled razvoja transplantacije kroz istoriju i opisan je značaj primene imunospresivnih lekova, sa posebnim osvrtom na takrolimus i sirolimus. Navedeni su mehanizmi delovanja, indikacije i primena oba leka. Klinička farmakokinetika takrolimusa i sirolimusa je detaljno opisana. Posebno su obrađeni faktori farmakokinetičke varijabilnosti takrolimusa i sirolimusa, uz navođenje dosadašnjih saznanja, kao i značaj i preporuke za terapijski monitoring ovih lekova.

U okviru poglavlja *Farmakometrija* opisana je populaciona farmakokinetička analiza i različiti metodološki i statistički pristupi koji se koriste u populacionoj farmakokinetičkoj analizi, od kojih je detaljno opisano nelinearno modelovanje kombinovanih efekata. Zatim je postupno predstavljen proces razvoja populacionog modela, kroz definisanje osnovnog modela, testiranje kovarijata i dobijanje finalnog modela. Na kraju, opisane su tehnike za procenu i validaciju populacionog modela.

U poglavlju *Ciljevi istraživanja* navedeni su ciljevi istraživanja sprovedenog u okviru disertacije.

Poglavlje *Metodologija istraživanja* je podeljeno u tri celine. U prvoj su opisani pacijenti, odnosno podaci koji su prikupljeni o pacijentima i kriterijumi za njihovo uključivanje/isključivanje u/iz ispitivanje/a. Zatim je naveden protokol uzimanja biološkog materijala i opisane su bioanalitičke metode kojima su određivane koncentracije takrolimusa i sirolimusa u okviru rutinskog praćenja. U poslednjoj celini je predstavljena populaciona farmakokinetička analiza podataka. Opisana je metodologija razvijanja i validacije populacionih farmakokinetičkih modela takrolimusa i sirolimusa korišćenjem programa *NONMEM*<sup>®</sup>.

U poglavlju *Rezultati istraživanja* najpre su prikazani demografski i biohemijski parametri, kao i karakteristike imunospresivne terapije pacijenata uključenih u istraživanje. Zatim su predstavljeni rezultati populacione analize takrolimusa i sirolimusa. Opisano je ispitivanje uticaja različitih potencijalnih faktora farmakokinetičke varijabilnosti na oralni klirens ( $CL/F$ ) takrolimusa u ranom posttransplantacionom periodu i u periodu od oko godinu dana nakon transplantacije. Razvijeni finalni modeli takrolimusa validirani su različitim tehnikama interne validacije i prikazani su rezultati validacije. U rezultatima populacione analize sirolimusa prikazani su detaljno rezultati testiranja različitih strukturalnih modela, a zatim i rezultati identifikacije značajnih faktora varijabilnosti u  $CL/F$ . Razvijeni finalni model sirolimusa je validiran tehnikama interne i eksterne validacije.

U okviru poglavlja *Diskusija* opisani su razvijeni populacioni farmakokinetički modeli, uz razmatranje svih ispitivanih faktora varijabilnosti i opravdanosti njihovog ispitivanja. Dobijeni rezultati detaljno su analizirani, objašnjeni i upoređeni sa dosadašnjim rezultatima drugih autora. Diskutovana je mogućnost primene razvijenih populacionih modela takrolimusa i sirolimusa u svakodnevnoj kliničkoj praksi.

U poglavlju *Zaključci*, zbirno su prikazani zaključci koji proizilaze iz najznačajnijih rezultati istraživanja i njihov značaj.

Poglavlje *Prilozi* sadrži listu skraćenica, spisak tabela i slika, primer dela dokumenta sa podacima, *NONMEM*<sup>®</sup> kodove za finalne modele za takrolimus i sirolimus, i primer konfiguracionog fajla za stepenovano građenje modela.

## **2. Opis postignutih rezultata**

U okviru ove doktorske disertacije izvršena je identifikacija i kvantifikacija faktora farmakokinetičke varijabilnosti takrolimusa i sirolimusa u pacijenata sa transplantiranim bubregom primenom nelinearnog modelovanja kombinovanih efekata.

Podaci za takrolimus su analizirani nezavisno za period do šest meseci nakon transplantacije (rani posttransplantacioni period) i period od oko godinu dana nakon transplantacije. Kao strukturalni model korišćen je jednodimenzionalni model sa resorpcijom i eliminacijom prvog reda, a interindividualna varijabilnost u osnovnom modelu opisana je eksponencijalnim modelom u oba slučaja. Za rezidualnu varijabilnost ispitani su aditivni, proporcionalni i kombinovani model. U analizi podataka za rani posttransplantacioni period najbolje karakteristike pokazao je aditivni model, dok je u modelu za period od oko godinu dana nakon transplantacije, kao model za rezidualnu grešku, izabran proporcionalni model. Nakon razvoja i procene osnovnog modela vršeno je ispitivanje uticaja različitih kovarijata na  $CL/F$  takrolimusa. Za rani posttransplantacioni period testiranje kovarijata je rađeno automatski kroz opciju *scm* (*stepwise covariate model building*) softvera *PsN*<sup>®</sup>. *Scm* podrazumeva princip uvrštavanja kovarijate sa najvećim značajem u model i testiranje ostalih kovarijata u odnosu na formirani submodel. U svakom narednom koraku se formira novi submodel dodavanjem najznačajnije kovarijate na osnovu smanjenja vrednosti objektivne funkcije (*OFV*), sve dok se ne formira potpuni model. Nakon formiranja potpunog modela sledi tzv. „korak unazad“ tj. izbacivanje jedne po jedne kovarijate koje ne pokažu zadovoljavajući nivo značajnosti koji se ogleda kroz porast *OFV* vrednosti. Finalnim modelom se smatra onaj iz koga su isključene sve kovarijate koje nisu zadovoljile navedeni

kriterijum. U ovoj analizi su bili zadati nivoi značajnosti  $p < 0,05$  za uključivanje faktora uticaja na model, tj. smanjenje  $OFV$  za najmanje 3,84 i za „korak unazad“  $p < 0,01$ , što odgovara porastu  $OFV$  za minimalno 6,63 pri isključivanju ispitivane kovarijate. Kao faktori farmakokinetičke varijabilnosti  $CL/F$  takrolimusa, u prvih 6 meseci nakon transplantacije, identifikovani su proteklo vreme od transplantacije ( $PDAY$ ), ukupna telesna masa ( $WT$ ), hematokrit ( $HCT$ ), nivo aspartat aminotransferaze ( $AST$ ) i ukupni proteini plazme ( $UP$ ). Za period od oko godinu dana nakon transplantacije testiranje kovarijata i razvoj finalnog modela vršeni su manuelno, po principu  $scm$  metode, i u finalnom modelu deo varijabilnosti  $CL/F$  takrolimusa objašnjem je uticajem  $WT$  i dnevne doze takrolimusa ( $DTAC$ ). Dobijeni finalni modeli procenjeni su odgovarajućim dijagnostičkim graphicima (*goodnessoffit*). Procena stabilnosti finalnih populacionih modela izvršena je *bootstrap* metodom. Prediktivne karakteristike su ispitivane i simulacionim tehnikama, kao što su vizuelna prediktivna procena i numerička prediktivna procena.

U prvoj fazi analize podataka za sirolimus vršen je izbor strukturalnog modela testiranjem jedno- i dvoprostornog modela uz fiksiranje ili uz korišćenje prethodno poznatih vrednosti za parametre koji nisu procenjivani i njihovu varijabilnost. Na osnovu vrednosti Akajikeovog i Bejzovog kriterijuma, koji su imali najniže vrednosti za dvoprostorni model u kome su korišćene prethodno poznate vrednosti parametara i njihove varijabilnosti, ovaj model je odabran kao strukturalni model. U sledećem koraku ispitivan je uticaja različitih kovarijata na  $CL/F$ . Uticaj kovarijata je ispitivan manuelno, po modelu na kome se zasniva automatizovani  $scm$  metod. U finalnom modelu dobijenom za sirolimus, varijabilnost u  $CL/F$  je delimično objašnjena uticajem funkcije jetre (izražena preko  $AST$ ) i starosti. Tehnike interne i eksterne validacije pokazale su stabilnost i odgovarajuću prediktabilnost razvijenog finalnog modela za sirolimus.

### **3. Uporedna analiza rezultata sa podacima iz literature**

U okviru ovog istraživanja, primenom populacionog pristupa u analizi podataka dobijenih rutinskim praćenjem takrolimusa i sirolimusa u pacijenata sa transplatiranim bubregom, ispitivana je farmakokinetička varijabilnost ovih lekova sa fokusom na identifikaciju i kvantifikaciju faktora varijabilnosti, kao i razvoj i validaciju populacionih farmakokinetičkih modela za date lekove, u datoj populaciji.

Farmakokinetika takrolimusa je opisana jednodimenzionalnim modelom sa linearnim procesom resorpcije i eliminacije, što je u skladu sa do sada objavljenim studijama (1-6). Za fitovanje koncentracija sirolimusa u funkciji vremena u ovoj studiji kao adekvatniji se pokazao složeniji farmakokinetički model, uz inkorporiranje eksternih podataka upotrebom prethodno poznatih vrednosti za parametre i njihovu varijabilnost, što je u saglasnosti sa rezultatima Danzirikula i saradnika (7).

U prvim mesecima nakon transplantacije, kao značajni faktori, od kojih zavisi vrednost  $CL/F$  takrolimusa, pokazali su se  $P_{DAY}$ ,  $WT$ ,  $HCT$ ,  $UP$  i  $AST$ . U periodu od približno godinu dana nakon transplantacije manji broj faktora se pokazao značajnim i to  $WT$  i  $DTAC$ . Finalni model za sirolimus uključivao je uticaj funkcije jetre i starost.

Telesna masa (koja se može testirati kao ukupna, idealna ili mišićna) se u populacionim modelima razvijenim za takrolimus može naći kao faktor varijabilnosti parametara svih procesa (resorpcije, raspodele i eliminacije) (2, 8-10). Prema rezultatima ovog istraživanja  $CL/F$  za takrolimus se povećava sa povećanjem  $WT$ , kako u ranom posttransplantacionom periodu, tako i kasnije. Kao i u do sada objavljenim studijama,  $WT$  ni u ovom istraživanju nije pokazala značajan uticaj na  $CL/F$  sirolimusa (7, 11-13).

Starost, kao i telesna masa, spada u intrinzičke kovarijate čiji se uticaj često ispituje u populacionim farmakokinetičkim studijama jer se mnoge fiziološke funkcije menjaju sa godinama starosti (14). U ovom istraživanju, uticaj starosti na  $CL/F$  takrolimusa je testiran za rani posttransplantacioni period i nije bilo značajnog uticaja, dok je populacioni model razvijen od strane Paseja i saradnika opisao ovaj uticaj (1). Razlika u karakteristikama ispitivanih populacija može biti razlog za razliku u rezultatima između ove disertacije i Paseja i saradnika. Starost se pokaže kao značajna kovarijata, obično onda kada je raspon godina u ispitivanoj populaciji veliki (14). S obzirom da je raspon starosti u populaciji uključenoj u istraživanje varijabilnosti za period od približno godinu dana od transplantacije bio vrlo sličan, ali nešto užu u odnosu na pacijente u ranom posttransplantacionom periodu (20 – 61 u odnosu na 16 – 60), za ovu subpopulaciju u studiji, uticaj starosti nije ni testiran kao kovarijata. S druge strane, prema rezultatima ovog istraživanja,  $CL/F$  sirolimusa se, smanjuje sa godinama starosti i ovaj rezultat je u saglasnosti sa rezultatima Danzirikula i saradnika (7).

$HCT$  je jedna od najčešćih kovarijata u populacionim modelima za takrolimus (2, 5, 6, 9, 10, 15-18). Ta činjenica ne iznenađuje obzirom da se takrolimus u značajnoj meri nakuplja u eritrocitima (19). Finalni model razvijen za rani posttransplantacioni period definiše inverznu zavisnost između  $CL/F$  takrolimusa i  $HCT$  što je u potpunosti u saglasnosti sa prethodno objavljenim rezultatima drugih autora (2, 5, 6, 10, 15-18). Storset i saradnici  $HCT$

smatraju ključnim faktorom u interpretaciji koncentracija takrolimusa koje su merene u punoj krvi (8). U istraživanju varijabilnosti  $CL/F$  takrolimusa u populaciji pacijenata u periodu od približno godinu dana nakon transplantacije, uticaj  $HCT$  se nije pokazao kao značajan. Verovatni razlog tome jeste manja varijabilnost u vrednostima  $HCT$  u ovoj populaciji

Smanjenje  $CL/F$  sa porastom albumina pokazano je rezultatima više studija (20-22). Poznato je da se takrolimus primarno vezuje za  $\alpha 1$  kiseli glikoprotein, lipoproteine, globuline i albumin (23, 24), pa je u skladu sa tim, u okviru ovog ustraživanja kao potencijalna kovarijata po prvi put testiran uticaj  $UP$ , a ne samo albumina. Vrednosti  $UP$  u pacijenata u ranom posttransplantacionom periodu kretale su se u rasponu 38 – 137 g/L ( $63,23 \pm 7,99$ ), a u grupi pacijenata za ispitivanje varijabilnosti nakon godinu dana od transplantacije raspon vrednosti bio je 63 – 80 g/L ( $71,76 \pm 3,70$ ). Otuda se značajnost uticaja  $UP$  na  $CL/F$  takrolimusa pokazala samo za period od prvih 6 meseci nakon transplantacije. Razvijeni model za taj vremenski period nakon transplantacije definiše porast  $CL/F$  takrolimusa sa porastom  $UP$ . Razlog za ovakvu, neočekivanu relaciju između  $CL/F$  i  $UP$  može biti skok u vrednostima  $\alpha 1$  kiselog glikoproteina u prvim danima nakon operacije kada su  $UP$  generalno niski. Kako je  $\alpha 1$  kiseli glikoprotein, protein akutne faze, porast njegovih vrednosti se očekuje kao odgovor na sistemsku povredu tkiva, inflamaciju ili infekciju (25), a njegove više vrednosti zabeležene su i u različitim bolestima i stanjima, u pacijenata sa traumom, teškim opekotinama, u populaciji primalaca kostne srži ili nakon transplantacije organa (26). Dodatno, vrednosti  $\alpha 1$  kiselog glikoproteina mogu porasti kao posledica visokih doza kortikosteroida u prvim danima nakon trasnplantacije (25-27), a protokol imunosupresivne terapije nakon transplantacije, prema kome su lečeni svi pacijenti uključeni u ovo istraživanje, podrazumevao je baš takvu primenu kortikosteroida. I u analizi sirolimusa, shodno njegovim farmakokinetičkim karakteristikama, visokom vezivanju za eritricite i proteine plazme, a pre svega lipoproteine, očekivao se uticaj  $HCT$ ,  $UP$ , holesterola ( $HOL$ ) ili triglicerida. Ipak, značajna korelacija između navedenih kovarijata i  $CL/F$  sirolimusa nije identifikovana. Samo u jednoj od prethodno objavljenih studija, uticaj  $HOL$  se pojavljuje u finalnom modelu za  $CL/F$  sirolimusa (13).

I takrolimus i sirolimus se primarno eliminišu putem jetre i metaboličkih transformacija, pa se kao potencijalni faktori varijabilnosti svakako očekuju i funkcija jetre, genetički polimorfizam i istovremena primena lekova koji se metabolišu posredstvom istih izoenzima  $CYP$ -a. U ranom posttransplantacionom periodu, prema dobijenom modelu u ovoj studiji, postoji negativna korelacija između  $CL/F$  takrolimusa i parametra za procenu funkcije jetre  $AST$ , što je u saglasnosti sa prethodno objavljenim studijama (5, 6). U grupi pacijenata za

period od oko godinu dana nakon transplantacije, sve vrednosti *AST* su bile u referentnom opsegu pa se ovaj faktor nije mogao ni očekivati u finalnom modelu razvijenom za tu populaciju. Između *CL/F* sirolimusa i funkcije jetre utvrđena je takođe negativna korelacija. Analogno istraživanju za takrolimus, i u slučaju za sirolimus, u finalnom modelu je funkcija jetre izražena preko nivoa enzima *AST*. Utvrđena veza između *CL/F* sirolimusa i *AST* u saglasnosti je sa rezultatima prethodno objavljenih istraživanja (28, 29). Uticaj *AST* je uvršćen u model kao kategorička kovarijata (referentne vrednosti / povišene vrednosti), a granična vrednost bila je 37 IU/L. Prema razvijenom modelu, oslabljena funkcija jetre (*AST* > 37 IU/L) dovodi do smanjenja *CL/F* sirolimusa za, u proseku, 37%. Rezultati ovog istraživanja ukazuju na potrebno pažljivo praćenje i eventualno korigovanje režima doziranja sirolimusa i pri blagim povećanjima nivoa *AST*.

Što se tiče uticaja aktivnosti samih izoenzima *CYP 3A*, u više studija je dokazan uticaj polimorfizma izoenzima *CYP 3A5* na farmakokinetiku takrolimusa i sirolimusa (1-3, 8-10, 12, 15, 16, 18, 30-32). Iako postoji veliki broj dokaza o značaju genetičkog polimorfizma u objašnjenju farmakokinetičke varijabilnosti takrolimusa, njegovo rutinsko testiranje se ne preporučuje prema protokolima većine transplantacionih centara. Protokol prema kome se prate pacijenti uključeni u ovo istraživanje ne uključuje rutinsko određivanje polimorfizma, a kako su prema metodologiji istraživanja korišćeni samo rutinski dobijeni podaci oni nisu uključivali informacije o polimorfizmu i taj faktor varijabilnosti nije ni ispitivan.

Iako je u više studija uticaj istovremene primene kortikosteroida pokazao uticaj na *CL/F* takrolimusa (1, 4, 31), u ovom istraživanju uticaj pomenute kovarijate se nije našao u razvijenim finalnim modelima, a mogući razlog za to može da bude vrlo ujednačeno doziranje.

I ostali istovremeno primenjivani lekovi koji su testirani u ovom istraživanju kao potencijalni faktori varijabilnosti (blokatori kalcijumskih kanala, ranitidin, omeprazol ili statini) nisu pokazali značajan uticaj. Potencijalni razlog može biti relativno mali broj pacijenata koji su bili na kombinovanoj terapiji, a i generalno mali broj pacijenata uključenih u studiju. Malo sniženje u vrednostima *CL/F* takrolimusa, pri istovremenoj primeni sa blokatorima kalcijumskih kanala, zabeleženo je i u studiji Paseja i saradnika koji su primenu bilo kog leka iz grupe blokatora kalcijumskih kanala posmatrali kao jednu kovarijatu (1). Uticaj diltiazema i nikardipina na *CL/F* takrolimusa je pokazan u jednoj studiji (6). U obe ove studije broj uključenih pacijenata bio je veći u odnosu na istraživanje sprovedeno u okviru ove disertacije.

U okviru ovog istraživanja značajan uticaj istovremene primene imunosupresivnih lekova, koji su deo trojne terapije, na *CL/F* sirolimusa nije identifikovan. U do sada objavljenim populacionim studijama značajan uticaj na *CL/F* sirolimusa pokazan je za istovremenu primenu ciklosporina, silimarina i glicirizina. *In vitro* istraživanja pokazala su da ovi biljni lekovi pokazuju inhibitorni efekat na izoenzim *CYP 3A4* i *P – gp* (33-36). Ovi lekovi se tradicionalno primenjuju za hepatoprotekciju i u oboljenjima jetre (37, 38). Stoga je teško sa sigurnošću tvrditi da li je do značajnog sniženja u *CL/F* sirolimusa došlo usled inhibitornih sposobnosti biljnih lekova ili zbog oslabljene funkcije jetre kod ispitivanih pacijenata ili je, pak, smanjenje *CL/F* rezultat aditivnog efekta navedenih faktora.

*PDAY* je jedna od najčešćih kovarijata u populacionim modelima razvijenim za takrolimus (1-6, 10). Prema modelu razvijenom u ovom istraživanju, vrednost *CL/F* se smanjuje sa vremenom nakon transplantacije, i to za u proseku 4,4% nakon 15 dana, 6,3% nakon mesec i 10,9% nakon 6 meseci. Smanjenje *CL/F* u vremenu se može objasniti ili povećanjem biološke raspoloživosti ili povećanjem vrednosti *HCT* i albumina usled stabilizacije stanja pacijenata nakon operacije (1, 20). Značajnije smanjenje u vrednostima *CL/F* u danima nakon transplantacije, u odnosu na rezultate ovog istraživanja, opisano je modelom Paseja i saradnika (1). Ova razlika se može objasniti činjenicom da model razvijen u istraživanju, koje je deo ove disertacije, uključuje i uticaj *HCT*, koji nije ispitivan u studiji Paseja i saradnika (1).

Kao kovarijata u finalnom modelu za period od približno godinu dana nakon transplantacije našla se i *DTAC*. Ova kovarijata je uvršćena u model pre svega zbog stabilnosti samog modela. Najverovatnije objašnjenje za ovakav uticaj doze na *CL/F* jeste tzv. *TDM* efekat objašnjen od strane Ana i saradnika (39). Kada studija ima dizajn takav da su podaci poreklom iz rutinskog praćenja (*TDM* – a), kao što je slučaj sa ovim istraživanjem, korelacija između doze i *CL/F* se javlja jer su doze određivane tj. titrirane tako da se merene koncentracije održe u željenom rasponu (39). Stoga, treba biti obazriv sa definisanjem nelinearnosti u farmakokinetici leka na osnovu prisustva doze leka u modelu.

Svi razvijeni populacioni modeli u ovoj disertaciji su validirani tehnikama interne i/ili eksterne validacije čime je pokazana njihova robusnost i zadovoljavajuća prediktabilnost.



## Literatura

1. Passey C, Birnbaum AK, Brundage RC, Oetting WS, Israni AK, Jacobson PA. Dosing equation for tacrolimus using genetic variants and clinical factors. *Br J Clin Pharmacol*. 2011 Dec;72(6):948-57. PubMed PMID: 21671989. Pubmed Central PMCID: 3244642.
2. Han N, Yun HY, Hong JY, Kim IW, Ji E, Hong SH, et al. Prediction of the tacrolimus population pharmacokinetic parameters according to CYP3A5 genotype and clinical factors using NONMEM in adult kidney transplant recipients. *Eur J Clin Pharmacol*. 2013 Jan;69(1):53-63. PubMed PMID: 22660440.
3. Han N, Ha S, Yun HY, Kim MG, Min SI, Ha J, et al. Population pharmacokinetic-pharmacogenetic model of tacrolimus in the early period after kidney transplantation. *Basic Clin Pharmacol Toxicol*. 2014 May;114(5):400-6. PubMed PMID: 24238261.
4. Antignac M, Barrou B, Farinotti R, Lechat P, Urien S. Population pharmacokinetics and bioavailability of tacrolimus in kidney transplant patients. *Br J Clin Pharmacol*. 2007 Dec;64(6):750-7. PubMed PMID: 17425625. Pubmed Central PMCID: 2198785.
5. Staatz CE, Willis C, Taylor PJ, Tett SE. Population pharmacokinetics of tacrolimus in adult kidney transplant recipients. *Clin Pharmacol Ther*. 2002 Dec;72(6):660-9. PubMed PMID: 12496747.
6. Zhang GM, Li L, Chen WQ, Bi SS, Liu X, Zhang XL, et al. [Population pharmacokinetics of tacrolimus in Chinese renal transplant patients]. *Yao Xue Xue Bao*. 2008 Jul;43(7):695-701. PubMed PMID: 18819472.
7. Dansirikul C, Morris RG, Tett SE, Duffull SB. A Bayesian approach for population pharmacokinetic modelling of sirolimus. *Br J Clin Pharmacol*. 2006 Oct;62(4):420-34. PubMed PMID: 16995863. Pubmed Central PMCID: 1885149.
8. Storset E, Holford N, Midtvedt K, Bremer S, Bergan S, Asberg A. Importance of hematocrit for a tacrolimus target concentration strategy. *Eur J Clin Pharmacol*. 2014 Jan;70(1):65-77. PubMed PMID: 24071959. Pubmed Central PMCID: 3889505.
9. Asberg A, Midtvedt K, van Guilder M, Storset E, Bremer S, Bergan S, et al. Inclusion of CYP3A5 genotyping in a nonparametric population model improves dosing of tacrolimus early after transplantation. *Transpl Int*. 2013 Dec;26(12):1198-207. PubMed PMID: 24118301. Pubmed Central PMCID: 3852421.
10. Bergmann TK, Hennig S, Barraclough KA, Isbel NM, Staatz CE. Population pharmacokinetics of tacrolimus in adult kidney transplant patients: impact of CYP3A5 genotype on starting dose. *Ther Drug Monit*. 2014 Feb;36(1):62-70. PubMed PMID: 24089074.
11. Ferron GM, Mishina EV, Zimmerman JJ, Jusko WJ. Population pharmacokinetics of sirolimus in kidney transplant patients. *Clin Pharmacol Ther*. 1997 Apr;61(4):416-28. PubMed PMID: 9129559.

12. Djebli N, Rousseau A, Hoizey G, Rerolle JP, Toupance O, Le Meur Y, et al. Sirolimus population pharmacokinetic/pharmacogenetic analysis and bayesian modelling in kidney transplant recipients. *Clin Pharmacokinet*. 2006;45(11):1135-48. PubMed PMID: 17048977.
13. Jiao Z, Shi XJ, Li ZD, Zhong MK. Population pharmacokinetics of sirolimus in de novo Chinese adult renal transplant patients. *Br J Clin Pharmacol*. 2009 Jul;68(1):47-60. PubMed PMID: 19660003. Pubmed Central PMCID: 2732940.
14. Bonate P. *Pharmacokinetic-Pharmacodynamic Modeling and Simulation*. New York: Springer; 2006.
15. Moes DJ, Swen JJ, den Hartigh J, van der Straaten T, van der Heide JJ, Sanders JS, et al. Effect of CYP3A4\*22, CYP3A5\*3, and CYP3A Combined Genotypes on Cyclosporine, Everolimus, and Tacrolimus Pharmacokinetics in Renal Transplantation. *CPT Pharmacometrics Syst Pharmacol*. 2014;3:e100. PubMed PMID: 24522145. Pubmed Central PMCID: 3944116.
16. Woillard JB, de Winter BC, Kamar N, Marquet P, Rostaing L, Rousseau A. Population pharmacokinetic model and Bayesian estimator for two tacrolimus formulations--twice daily Prograf and once daily Advagraf. *Br J Clin Pharmacol*. 2011 Mar;71(3):391-402. PubMed PMID: 21284698. Pubmed Central PMCID: 3045548.
17. Benkali K, Premaud A, Picard N, Rerolle JP, Toupance O, Hoizey G, et al. Tacrolimus population pharmacokinetic-pharmacogenetic analysis and Bayesian estimation in renal transplant recipients. *Clin Pharmacokinet*. 2009;48(12):805-16. PubMed PMID: 19902988.
18. Musuamba FT, Mourad M, Haufroid V, Demeyer M, Capron A, Delattre IK, et al. A simultaneous d-optimal designed study for population pharmacokinetic analyses of mycophenolic Acid and tacrolimus early after renal transplantation. *J Clin Pharmacol*. 2012 Dec;52(12):1833-43. PubMed PMID: 22207766.
19. Staatz CE, Tett SE. Clinical pharmacokinetics and pharmacodynamics of tacrolimus in solid organ transplantation. *Clin Pharmacokinet*. 2004;43(10):623-53. PubMed PMID: 15244495.
20. Undre NA, Schafer A. Factors affecting the pharmacokinetics of tacrolimus in the first year after renal transplantation. *European Tacrolimus Multicentre Renal Study Group. Transplantation proceedings*. 1998 Jun;30(4):1261-3. PubMed PMID: 9636512.
21. Zahir H, McLachlan AJ, Nelson A, McCaughan G, Gleeson M, Akhlaghi F. Population pharmacokinetic estimation of tacrolimus apparent clearance in adult liver transplant recipients. *Ther Drug Monit*. 2005 Aug;27(4):422-30. PubMed PMID: 16044097.
22. Antignac M, Hulot JS, Boleslawski E, Hannoun L, Touitou Y, Farinotti R, et al. Population pharmacokinetics of tacrolimus in full liver transplant patients: modelling of the post-operative clearance. *Eur J Clin Pharmacol*. 2005 Jul;61(5-6):409-16. PubMed PMID: 15991041.

23. Nagase K, Iwasaki K, Nozaki K, Noda K. Distribution and protein binding of FK506, a potent immunosuppressive macrolide lactone, in human blood and its uptake by erythrocytes. *J Pharm Pharmacol*. 1994 Feb;46(2):113-7. PubMed PMID: 7517447.
24. Warty V, Venkataramanan R, Zendeherouh P, McKaveney T, Chao J, Todo S, et al. Distribution of FK 506 in plasma lipoproteins in transplant patients. *Transplantation proceedings*. 1991 Feb;23(1 Pt 2):954-5. PubMed PMID: 1703363.
25. Fournier T, Medjoubi NN, Porquet D. Alpha-1-acid glycoprotein. *Biochim Biophys Acta*. 2000 Oct 18;1482(1-2):157-71. PubMed PMID: 11058758.
26. Israili ZH, Dayton PG. Human alpha-1-glycoprotein and its interactions with drugs. *Drug Metab Rev*. 2001 May;33(2):161-235. PubMed PMID: 11495502.
27. Vannice JL, Taylor JM, Ringold GM. Glucocorticoid-mediated induction of alpha 1-acid glycoprotein: evidence for hormone-regulated RNA processing. *Proc Natl Acad Sci U S A*. 1984 Jul;81(14):4241-5. PubMed PMID: 6205392.
28. Zimmerman JJ, Patat A, Parks V, Moirand R, Matschke K. Pharmacokinetics of sirolimus (rapamycin) in subjects with severe hepatic impairment. *J Clin Pharmacol*. 2008 Mar;48(3):285-92. PubMed PMID: 18218785.
29. Zimmerman JJ, Lasseter KC, Lim HK, Harper D, Dilzer SC, Parker V, et al. Pharmacokinetics of sirolimus (rapamycin) in subjects with mild to moderate hepatic impairment. *J Clin Pharmacol*. 2005 Dec;45(12):1368-72. PubMed PMID: 16291711.
30. Storset E, Holford N, Hennig S, Bergmann TK, Bergan S, Bremer S, et al. Improved prediction of tacrolimus concentrations early after kidney transplantation using theory-based pharmacokinetic modelling. *Br J Clin Pharmacol*. 2014 Sep;78(3):509-23. PubMed PMID: 25279405. Pubmed Central PMCID: 4243902.
31. Press RR, Ploeger BA, den Hartigh J, van der Straaten T, van Pelt J, Danhof M, et al. Explaining variability in tacrolimus pharmacokinetics to optimize early exposure in adult kidney transplant recipients. *Ther Drug Monit*. 2009 Apr;31(2):187-97. PubMed PMID: 19258929.
32. Benkali K, Rostaing L, Premaud A, Woillard JB, Saint-Marcoux F, Urien S, et al. Population pharmacokinetics and Bayesian estimation of tacrolimus exposure in renal transplant recipients on a new once-daily formulation. *Clin Pharmacokinet*. 2010 Oct;49(10):683-92. PubMed PMID: 20818834.
33. Zhang S, Morris ME. Effects of the flavonoids biochanin A, morin, phloretin, and silymarin on P-glycoprotein-mediated transport. *J Pharmacol Exp Ther*. 2003 Mar;304(3):1258-67. PubMed PMID: 12604704.
34. Tsukamoto S, Aburatani M, Yoshida T, Yamashita Y, El-Beih AA, Ohta T. CYP3A4 inhibitors isolated from Licorice. *Biol Pharm Bull*. 2005 Oct;28(10):2000-2. PubMed PMID: 16204965.

35. Sridar C, Goosen TC, Kent UM, Williams JA, Hollenberg PF. Silybin inactivates cytochromes P450 3A4 and 2C9 and inhibits major hepatic glucuronosyltransferases. *Drug Metab Dispos.* 2004 Jun;32(6):587-94. PubMed PMID: 15155549.
36. Doehmer J, Tewes B, Klein KU, Gritzko K, Muschick H, Mengers U. Assessment of drug-drug interaction for silymarin. *Toxicol In Vitro.* 2008 Apr;22(3):610-7. PubMed PMID: 18249085.
37. Levy C, Seeff LD, Lindor KD. Use of herbal supplements for chronic liver disease. *Clin Gastroenterol Hepatol.* 2004 Nov;2(11):947-56. PubMed PMID: 15551246.
38. Pradhan SC, Girish C. Hepatoprotective herbal drug, silymarin from experimental pharmacology to clinical medicine. *Indian J Med Res.* 2006 Nov;124(5):491-504. PubMed PMID: 17213517.
39. Ahn JE, Birnbaum AK, Brundage RC. Inherent correlation between dose and clearance in therapeutic drug monitoring settings: possible misinterpretation in population pharmacokinetic analyses. *J Pharmacokinet Pharmacodyn.* 2005 Dec;32(5-6):703-18. PubMed PMID: 16328100.

#### **4. Objavljeni i saopšteni rezultati koji čine deo doktorske disertacije**

##### **Vrhunski međunarodni časopis (M21)**

- Golubović B, Vučićević K, Radivojević D, Kovačević Vezmar S, Prostran M, Miljković B. Total plasma protein effect on tacrolimus elimination in kidney transplant patients-population pharmacokinetic approach. *Eur J Pharm Sci.* 2014; 52: 34-40.
- Golubović B, Prostran M, Miljković B, Vučićević K, Radivojević D, Grabnar I. Population pharmacokinetic approach of immunosuppressive therapy in kidney transplant patients. *Curr Med Chem.* 2016; 23(19): 1998-2011.

##### **Međunarodni časopis (M23)**

- Golubović B, Vučićević K, Radivojević K, Kovačević Vezmar S, Prostran M, Miljković B. Exploring sirolimus pharmacokinetic variability using data available from the routine clinical care of renal transplant patients – population pharmacokinetic approach. *J Med Biochem.* 2018. In press.

### **Saopštenje sa međunarodnog skupa štampano u izvodu (M34)**

- Golubović B, Vučićević K, Radivojević K, Kovačević Vezmar S, Prostran M, Miljković B. Prediction of tacrolimus dose based on estimated clearance using population pharmacokinetic approach in adult kidney transplant patients. Influence of topiramate therapy duration on serum bicarbonate levels in adults. *Pharmacotherapy*. 2014; 34(6): e114.
- Golubović B, Vučićević K, Radivojević K, Kovačević Vezmar S, Prostran M, Miljković B. Total plasma protein and haematocrit influence on tacrolimus clearance in kidney transplant patients - population pharmacokinetic. *Population Approach Group Europe: 22nd Meeting*, 11-15. June 2013, Glasgow, UK. Abstract 2761.
- Golubović B, Vučićević K, Radivojević K, Kovačević Vezmar S, Prostran M, Miljković B. Population pharmacokinetics of sirolimus in adult kidney transplant patients. *Population Approach Group Europe: 23rd Meeting*, 10-13. June 2014, Alicante, Spain. Abstract 3057.
- Golubović B, Vučićević K, Jovanović M, Radivojević K, Kovačević Vezmar S, Prostran M, Miljković B. Population pharmacokinetic analysis of tacrolimus TDM data in stable kidney transplant patients. *Population Approach Group Europe: 24th Meeting*, 02-05. June 2015, Hersonissos, Crete, Greece. Abstract 3466.
- Golubović B, Vučićević K, Jovanović M, Radivojević K, Kovačević Vezmar S, Prostran M, Miljković B. Population modelling of sirolimus data available from routine therapeutic drug monitoring. *Population Approach Group Europe: 25th Meeting*, 07 – 10. June 2016, Lisboa, Portugal. Abstract 5814.

### **Predavanje po pozivu sa skupa nacionalnog značaja štampano u izvodu (M62)**

- Golubović B, Vučićević K, Radivojević K, Kovačević Vezmar S, Prostran M, Miljković B. Primena i značaj terapijskog monitoring imunosupresiva. VI Kongres farmaceuta Srbije sa međunarodnim učešćem, 15-19. oktobar 2014, Beograd, Srbija. *Zbornik sažetaka* 2014; 128-129.

## 5. Zaključak - obrazloženje naučnog doprinosa doktorske disertacije

Savremena farmakoterapija teži individualnom pristupu pacijentu radi postizanja efikasne i bezbedne terapije. Poznavanje farmakokinetičkih karakteristika, tj. vrednosti farmakokinetičkih parametara potrebno je za postavljanje i korigovanje doznog režima. Identifikovanje faktora varijabilnosti u farmakokinetici leka, kao što je urađeno za takrolimus i sirolimus u istraživanjima u okviru ove disertacije, omogućava procenu individualnih vrednosti farmakokinetičkih parametara, pa samim tim i izračunavanje individualno prilagođene doze leka. Na osnovu rezultata validacije svih finalnih modela razvijenih u okviru ove doktorske disertacije, može se zaključiti da se svi ovi modeli mogu primeniti za procenu individualnih vrednosti  $CL/F$  takrolimusa i sirolimusa na osnovu demografskih i biohemijskih parametara koji su faktori u finalnim modelima. I takrolimus i sirolimus se doziraju na osnovu merenih koncentracija u okviru  $TDM$  – a, koje zavise od  $CL/F$ . Razvijeni i validirani modeli, koji su rezultati istraživanja sprovedenih u okviru ove disertacije, mogu se inkorporirati u standardni proces  $TDM$  – a sa ciljem predviđanja individualnih vrednosti  $CL/F$ . Otuda, rezultati ove doktorske disertacije daju doprinos u individualnom pristupu pacijentu i optimalnoj terapiji takrolimusom i sirolimusom.

Komisija smatra da je kandidat uspešno realizovao istraživanja i predlaže Nastavno-naučnom veću Univerziteta u Beogradu – Farmaceutskog fakulteta da prihvati ovaj Izveštaj i uputi ga Veću naučnih oblasti medicinskih nauka Univerziteta u Beogradu, radi dobijanja saglasnosti za javnu odbranu doktorske disertacije kandidata dipl. farm. spec. Bojane Golubović, pod nazivom *Populacioni pristup farmakokinetičkoj analizi takrolimusa i sirolimusa u pacijenata sa transplantiranim bubregom*.

U Beogradu, 21.10.2018. godine

## Članovi komisije

dr sc. Branislava Miljković - mentor rada, redovni profesor  
Univerzitet u Beogradu - Farmaceutski fakultet, Srbija

---

dr sc. Višnja Ležaić, redovni profesor  
Univerzitet u Beogradu - Medicinski fakultet  
Klinika za nefrologiju, Klinički centar Srbije, Srbija

---

dr sc. Katarina Vučićević, vanredni profesor  
Univerzitet u Beogradu - Farmaceutski fakultet, Srbija

---

dr sc. Sandra Vezmar Kovačević, vanredni profesor  
Univerzitet u Beogradu - Farmaceutski fakultet, Srbija

---

dr sc. Sonja Vučković, redovni profesor  
Univerzitet u Beogradu - Medicinski fakultet, Srbija

---