



УНИВЕРЗИТЕТ У НОВОМ САДУ

МЕДИЦИНСКИ ФАКУЛТЕТ



**Потенцијал екстракта матичњака
(*Melissa officinalis* L., Lamiaceae) као
помоћне терапије у лечењу
инфицираних вирусом хумане
имунодефицијенције**

ДОКТОРСКА ДИСЕРТАЦИЈА

Ментори:

Проф. др Снежана Бркић

Проф. др Гордана Драговић Лукић

Кандидат:

Маја Хитл

Нови Сад, 2022. године

УНИВЕРЗИТЕТ У НОВОМ САДУ
МЕДИЦИНСКИ ФАКУЛТЕТ НОВИ САД

КЉУЧНА ДОКУМЕНТАЦИЈСКА ИНФОРМАЦИЈА

Врста рада:	докторска дисертација
Име и презиме аутора:	Маја Хитл
Ментор (титула, име, презиме, звање, институција)	др Снежана Бркић, редовни професор, Медицински факултет Универзитета у Новом Саду др Гордана Драговић Лукић, редовни професор, Медицински факултет Универзитета у Београду
Наслов рада:	Потенцијал екстракта матичњака (<i>Melissa officinalis</i> L., Lamiaceae) као помоћне терапије у лечењу инфицираних вирусом хумане имунодефицијенције
Језик публикације (писмо):	српски (ћирилица)
Физички опис рада:	Унети број: Страница 148 Поглавља 9 Референци 195 Табела 55 Слика 15 Графикона 0 Прилога 8
Научна област:	фармација
Ужа научна област (научна дисциплина):	фармакогнозија са фитотерапијом
Кључне речи / предметна одредница:	матичњак; породица уснатица; биљни екстракти; HIV инфекција; антиретровирусни лекови; хипогликемијски лекови; метаболички синдром; оксидативни стрес; исход лечења
Резиме на језику рада:	<p>Литература даје ограничене податке о употреби матичњака код пацијената са инфекцијом вирусом хумане дефицијенције (енг. <i>human immunodeficiency virus</i> – HIV), али подаци клиничких студија указују на бенефите примене ове биљке код поремећаја метаболизма угљених хидрата и липида.</p> <p>Циљ рада је био испитати деловање матичњака уз антиретровирусну терапију која садржи ефавиренз, дарунавир или ралтегравир, као и утврдити позитивне ефекте примене матичњака у регулацији метаболичког синдрома.</p> <p>Извршена је прелиминарна и детаљна хемијска анализа дијететског суплемента на бази екстракта листа матичњака. Испитано је антихипергликемично деловање екстракта у <i>in vitro</i> тестовима инхибиције ензима α-амилазе и α-глукозидазе. Поред тога, суплемент на бази екстракта матичњака и чиста розмаринска киселина су у <i>in vitro</i> условима подвргнути ферментацији помоћу пробиотских микроорганизама. Испитивање на пацијентима је укључило пацијенте Клинике за инфективне болести Клиничког центра Војводине који су инфицирани HIV-ом, са присутним метаболичким синдромом. Пацијенти су на основу лека који примају у терапији подељени на 3 групе, а поред прописане антиретровирусне терапије примали су и матичњак у дози од 600 mg</p>

	<p>током 12 недеља. Пацијентима су на почетку и на крају периода испитивања мерени следећи параметри: концентрација розмаринске киселине у крви, концентрација антиретровирусног лека (ефавиренз, дарунавир или ралтегравир) у крви, број копија вируса HIV-а у крви, хематолошки, имунолошки и биохемијски параметри, показатељи оксидативног стреса, активност ензима антиоксидативне заштите, као и антропометријски параметри.</p> <p>Испитани суплемент на бази екстракта окарактерисан је као добар извор фенолних једињења, при чему је најзаступљенија компонента била розмаринска киселина. Утврђена је <i>in vitro</i> инхибиција оба ензима у релативно ниским концентрацијама, уз бољу активност у инхибицији α-глукозидазе. Путем <i>in vitro</i> ферментације показано је да суплемент на бази екстракта подлеже интензивном метаболизму од стране пробиотских сојева; розмаринска киселина у екстракту је стабилнија у поређењу са изолованом формом. Показано је и да ово једињење представља маркер употребе матичњака у плазми, при чему се розмаринска киселина у крви након 12 недеља употребе доминантно налази у облику глукуронида и сулфата. Нису пронађене статистички значајне разлике између концентрација испитиваних лекова одређених пре и после 12 недеља примене матичњака. Није забележено повећање броја копија вируса у крви. Хематолошки и имунолошки параметри који су праћени нису показали статистички значајну промену вредности. У оквиру биохемијских параметара није дошло до статистички значајних промена које се могу повезати са употребом матичњака, са изузетком испитиване групе ефавиренза, где је дошло до статистички значајног повећања аланин аминотрансферазе и аспартат аминотрансферазе, али је повећање наведених ензима било у оквиру физиолошких вредности. Показано је да након 12 недеља примене матичњака долази до статистички значајне редукције параметара оксидативног стреса у испитиваним групама пацијената који су примали ефавиренз и дарунавир, а у испитиваној групи са ефавирензом потврђено је и статистички значајно повећање активности глутатион-S-трансферазе. У оквиру антропометријски параметара уочено је повећање телесне масе након 12 недеља примене матичњака у испитиваној групи са ефавирензом.</p> <p>Овде представљено истраживање показало је да истовремена примена матичњака уз антиретровирусну терапију која укључује један од испитиваних лекова не утиче на концентрације ових лекова. Праћени параметри који су испитивани код пацијената показали су да је примена матичњака у дози од 600 mg током 12 недеља безбедна за пацијенте. Показани позитивни ефекти указују на повољно дејство код пацијената инфицираних HIV-ом са метаболичким синдромом.</p>
Датум прихватања теме од стране надлежног већа:	20. новембар 2018. године
Датум одбране: (Попуњава одговарајућа служба)	
Чланови комисије: (титула, име, презиме, звање, институција)	Председник: Члан: Члан: Члан:
Напомена:	

**UNIVERSITY OF NOVI SAD
FACULTY OF MEDICINE NOVI SAD**

KEY WORD DOCUMENTATION

Document type:	Doctoral dissertation
Author:	Maja Hitl
Supervisor (title, first name, last name, position, institution)	Snežana Brkić, PhD, MD, Professor, Faculty of Medicine, University of Novi Sad Gordana Dragović Lukić, PhD, MD, Professor, School of Medicine, University of Belgrade
Thesis title:	The potential of lemon balm (<i>Melissa officinalis</i> L., Lamiaceae) extract used as adjuvant therapy in treatment of people infected by the human immunodeficiency virus
Language of text (script):	Serbian (cyrillic)
Physical description:	Number of: Pages 148 Chapters 9 References 195 Tables 55 Illustrations 15 Graphs 0 Appendices 8
Scientific field:	Pharmacy
Scientific subfield (scientific discipline):	Pharmacognosy with phytotherapy
Subject, Key words:	Melissa; Lamiaceae; Plant Extracts; HIV Infections; Anti-Retroviral Agents; Hypoglycemic Agents; Metabolic Syndrome; Oxidative Stress; Treatment Outcome
Abstract in English language:	<p>Literature contains limited data on the use of lemon balm in patients infected with the human immunodeficiency virus (HIV). However, data from clinical studies indicate the benefits of this plant's use in carbohydrate and lipid metabolism disorders.</p> <p>The aim of this study was to examine the effect of lemon balm when used alongside antiretroviral therapy containing efavirenz, darunavir or raltegravir, as well as to determine the positive effects of the use of lemon balm in metabolic syndrome regulation.</p> <p>Both a preliminary and a detailed chemical analysis of lemon balm leaf extract were performed. The antihyperglycemic activity of the extract was investigated in <i>in vitro</i> α-amylase and α-glucosidase enzyme inhibition assays. Fermentation of the lemon balm extract, as well as of pure rosmarinic acid with probiotic microorganisms, was also performed <i>in vitro</i>. The investigation performed on patients included patients of the Clinic for Infectious Diseases of the Clinical Center of Vojvodina infected with HIV and with a co-occurring metabolic syndrome. The patients were divided into 3 groups based on the medication they received in antiretroviral therapy, and in addition to the prescribed therapy, they received lemon balm in a dose of 600 mg for 12 weeks. At the beginning and at the end of the study period, the following parameters were measured in patients: the concentration of rosmarinic acid in the patients' blood,</p>

	<p>antiretroviral drug concentration (efavirenz, darunavir or raltegravir) in the patients' blood, the number of copies of HIV in the patients' blood, hematological, immunological and biochemical parameters, oxidative stress, the activity of enzymes of antioxidant protection, and anthropometric parameters.</p> <p>The tested extract was characterized as a good source of phenolic compounds, with rosemary acid being the most abundant compound. The extract showed <i>in vitro</i> inhibition of both enzymes at relatively low concentrations, with better activity in α-glucosidase inhibition. In <i>in vitro</i> fermentation, the extract has been shown to undergo intensive metabolism by probiotic strains; rosmarinic acid in the extract was more stable compared to the pure chemical compound. Blood analysis has shown that rosmarinic acid is a marker of the use of lemon balm in plasma, however, this compound is found in the form of a sulfoglucuronide in the blood after 12 weeks of use. No statistically significant differences were found between the concentrations of the tested drugs before and after 12 weeks of investigation. There was no increase in the number of copies of the virus in the blood. The monitored hematological and immunological parameters did not show a statistically significant change in values. Within the monitored biochemical parameters, there were no statistically significant changes that can be associated with the use of lemon balm, with the exception of the studied group of efavirenz, where there was a statistically significant increase in alanine aminotransferases and aspartate aminotransferases, but within reference values. It was shown that after 12 weeks of application of lemon balm, there was a statistically significant reduction in oxidative stress parameters in the studied groups of efavirenz and darunavir; in addition, a statistically significant increase in glutathione-S-transferase activity was shown in the efavirenz study group. Regarding the parameters of anthropometry, an increase in body weight was shown in the examined group of efavirenz after 12 weeks of application of lemon balm.</p> <p>The research presented here shows that the simultaneous use of lemon balm with antiretroviral therapy that includes one of the tested drugs does not affect the concentrations of these drugs. The monitored parameters in the patients showed that the use of lemon balm for 12 weeks in a dose of 600 mg was safe for patients. The presented positive results indicate a beneficial effect on HIV-infected patients with metabolic syndrome.</p>
Accepted on Scientific Board on:	20 November 2018
Defended: (Filled by the faculty service)	
Thesis Defend Board: (title, first name, last name, position, institution)	President: Member: Member: Member:
Note:	

*La inspiración existe,
pero tiene que encontrarte trabajando.
Pablo Picasso*

Захвалница

Највеће хвала дугујем својим менторкама, проф. др Снежани Бркић и проф. др Гордани Драговић Лукић, на несебичној помоћи током целог процеса осмишљавања, извођења и писања ове докторске дисертације.

Велико хвала свим члановима Комисије за оцену и одбрану доктората- проф. др Биљани Божин, проф. др Даниели Марић, проф. др Љиљани Гојковић Букарица, проф. др Бранислави Срђеновић Чонић и доц. др Небојши Кладар- на свим сугестијама, коментарима и критикама, које су допринеле квалитету овог рада.

Срдачно се захваљујем свима који су у било којој форми допринели овој докторској дисертацији.

Бескрајно хвала мојој породици, на безрезервној подршци, током целог овог путовања.

САДРЖАЈ

1. УВОД У ИСТРАЖИВАЊЕ.....	1
2. ОПШТИ ДЕО	3
2.1 Вирус хумане имунодефицијенције	3
2.1.1 Кратка историја	3
2.1.2 Специфичности вируса и репликативни циклус.....	3
2.1.3 Антиретровирусни лекови	5
2.1.3.1 Ефавиренз	7
2.1.3.2 Дарунавир	8
2.1.3.3 Ралтегравир.....	9
2.1.4 Проблеми савремене антиретровирусне терапије.....	10
2.1.4.1 Доступност лекова	10
2.1.4.2 Резистенција на лекове	11
2.1.4.3 Нежељена дејства лекова	11
2.1.4.3.1 Метаболички синдром.....	11
2.1.5 Фитотерапија HIV-а.....	13
2.2 Матичњак.....	16
2.2.1 Опис биљке и дроге	16
2.2.2 Примена матичњака.....	17
2.2.3 Биолошка и фармаколошка деловања матичњака	18
2.2.3.1 Антивирусно деловање.....	18
2.2.3.1.1 Антиретровирусно деловање	19
2.2.3.2 Деловање на метаболизам липида и угљених хидрата.....	19
2.2.3.3 Хепатопротективно деловање.....	20
2.2.3.4 Антиокидативно деловање.....	21
2.2.4 Фармацеутски облици на тржишту и дозирање.....	21
2.2.5 Безбедност	22
2.2.6 Хемијски састав матичњака	23
2.2.6.1 Етарско уље	23
2.2.6.2 Тритерпени	24
2.2.6.3 Флавоноиди	24

2.2.6.4	Фенолне киселине.....	24
2.2.6.4.1	Розмаринска киселина.....	25
2.2.6.4.1.1	Фармакокинетика розмаринске киселине.....	26
3.	ЦИЉЕВИ И ХИПОТЕЗЕ.....	28
4.	МАТЕРИЈАЛ, ПАЦИЈЕНТИ И МЕТОДЕ.....	29
4.1.	Препарат матичњака.....	29
4.2.	Хемијска карактеризација активних принципа препарата матичњака.....	29
4.2.1.	Прелиминарна хемијска карактеризација.....	29
4.2.2	Детаљна хемијска карактеризација.....	30
4.3.	Одређивање <i>in vitro</i> антихипергликемичног деловања матичњака.....	31
4.4.	<i>In vitro</i> ферментација розмаринске киселине и екстракта матичњака.....	32
4.5.	Пацијенти и нацрт студије.....	34
4.6.	Одређивање концентрације розмаринске киселине у крви пацијената.....	36
4.7.	Одређивање концентрације антиретровирусних лекова у крви пацијената.....	37
4.8.	Одређивање броја копија HIV РНК.....	38
4.9.	Одређивање хематолошких параметара у крви пацијената.....	39
4.10.	Одређивање имунолошких параметара у крви пацијената.....	40
4.11.	Одређивање биохемијских параметара у крви пацијената.....	40
4.12.	Одређивање показатеља оксидативног стреса и антиоксидативне заштите.....	41
4.12.1	Одређивање интензитета липидне пероксидације.....	41
4.12.1.2	Одређивање интензитета липидне пероксидације у плазми.....	41
4.12.1.2	Одређивање интензитета липидне пероксидације у хемолизату.....	42
4.12.2	Одређивање активности антиоксидативних ензима.....	43
4.12.2.1	Одређивање активности каталазе.....	43
4.12.2.2	Одређивање активности глутатион S-трансферазе.....	43
4.13.	Антропометрија.....	43
4.14.	Субјективна процена пацијената.....	44
4.15.	Статистичка обрада резултата.....	44
5.	РЕЗУЛТАТИ.....	46
5.1.	Хемијска карактеризација активних принципа препарата матичњака.....	46
5.2.	Одређивање <i>in vitro</i> антихипергликемичног деловања матичњака.....	47
5.3.	<i>In vitro</i> ферментација розмаринске киселине и екстракта матичњака.....	47
5.4.	Пацијенти.....	52

5.5. Одређивање концентрације розмаринске киселине у крви пацијената	55
5.6. Одређивање концентрације антиретровирусних лекова у крви пацијената.....	58
5.7. Одређивање броја копија HIV РНК.....	60
5.8. Одређивање хематолошких параметара у крви пацијената	61
5.9. Одређивање имунолошких параметара у крви пацијената	67
5.10. Одређивање биохемијских параметара у крви пацијената	70
5.10.1 Одређивање параметара метаболизма угљених хидрата	70
5.10.2 Одређивање параметара метаболизма липида	74
5.10.3 Одређивање параметара функције јетре	82
5.11. Одређивање показатеља оксидативног стреса и антиоксидативне заштите	88
5.11.1 Одређивање интензитета липидне пероксидације	88
5.11.2 Одређивање активности антиоксидативних ензима	92
5.12. Антропометрија.....	96
5.13. Субјективна процена пацијената	104
6. ДИСКУСИЈА.....	105
6.1. Хемијска карактеризација активних принципа препарата матичњака	105
6.2. Одређивање <i>in vitro</i> антихипергликемичног деловања матичњака.....	106
6.3. <i>In vitro</i> ферментација розмаринске киселине и екстракта матичњака	106
6.4. Одређивање концентрације розмаринске киселине у крви пацијената	108
6.5. Одређивање концентрације антиретровирусних лекова у крви пацијената.....	109
6.5.1 Одређивање концентрације ефавиренза	109
6.5.2. Одређивање концентрације дарунавира	110
6.5.3. Одређивање концентрације ралтегравира	111
6.6. Одређивање броја копија HIV РНК.....	112
6.7 Одређивање хематолошких параметара у крви пацијената	113
6.8 Одређивање имунолошких параметара у крви пацијената	113
6.9 Одређивање биохемијских параметара у крви пацијената	114
6.10 Одређивање показатеља оксидативног стреса и антиоксидативне заштите	117
6.11 Антропометрија.....	118
6.12 Субјективна процена пацијената	119
7. ЗАКЉУЧЦИ	121
ЛИТЕРАТУРА.....	122
ПРИЛОЗИ	134

Прилог 1. Упутство пацијентима испитиваних група.....	135
Прилог 2. Упутство пацијентима контролних група.....	137
Прилог 3. Анкета о утисцима употребе матичњака.	139
Прилог 4. Хроматограм анализираног дијететског суплемента на бази екстракта матичњака. .	141
Прилог 5. Пример хроматограма анализираног дијететског суплемента на бази екстракта матичњака након ферментације.....	142
Прилог 6. Пример хроматограма анализе розмаринске киселине у плазми пацијената.....	143
Прилог 7. Примери хроматограма анализе лекова у плазми пацијената.....	144
Прилог 8. Пример хроматограма анализе TBARS у хемолизату пацијената.....	148

1. УВОД У ИСТРАЖИВАЊЕ

Инфекција вирусом хумане имунодефицијенције (енг. *human immunodeficiency virus* – HIV) и последична болест биле су праћене неизвесношћу све до појаве антивирусне терапије. Услед неповољног профила токсичности, првобитна терапија имала је за циљ само преживљавање пацијената, уз изражене нежељене ефекте. Побољшањем постојећих и открићем нових терапијских могућности фокус је пребачен на редукцију нежељених дејстава лекова, смањење интеракција, као и на проналазак једнотаблетних режима који доприносе побољшању адхеренције. Савремена терапија је изједначила животни век особа које живе са HIV-ом са општом популацијом, али се сматра да је квалитет живота нижи, првенствено у смислу бржег старења пацијената.

Услед претходно наведеног, пацијенти неретко имају потребу за лечењем постојећих стања и обољења повезаних са самом инфекцијом, новонасталим коморбидитетима, али и оних изазваних антиретровирусном терапијом. Међу потенцијалним терапијским агенсима налазе се и лековите биљке, чија је употреба разматрана од самог открића вируса. Првобитна фитотерапија имала је за циљ да испита директно антиретровирусно деловање, а савремене тенденције су да се лековите биљке користе као допунска лековита средства постојећој терапији, првенствено у циљу редукције нежељених дејстава конвенционалних лекова. Изразито битан аспект истовремене употребе медицински значајних биљака и антиретровирусне терапије су фармакокинетске интеракције, које понекад захтевају корекцију терапије у циљу спречавања терапијског неуспеха.

Матичњак (*Melissa officinalis* L., Lamiaceae) представља лековиту биљку чија се употреба везује за антички период. Традиционална медицина препознаје њене бројне примене, а потврђена је и активност матичњака као антивирусног и спазмолитичког агенса. Савремене клиничке студије имају за циљ да покажу ефекте матичњака и код других обољења, првенствено у погледу регулације поремећаја метаболизма угљених хидрата и липида.

Још један битан сегмент испитивања лековитих биљака јесте одређивање активних принципа. За разлику од конвенционалних лекова, који по правилу имају једну или свега неколико фармаколошки активних супстанци, број активних компонената у биљним приправцима може досезати неколико десетина. Иако се активност биљке често приписује активности количински најзаступљенијем једињењу, студије показују да је одређен

механизам деловања биљног екстракта управо последица синергистичког дејства више активних супстанци.

Доступна литература даје ограничене податке о употреби матичњака у HIV инфекцији. Изузев *in vitro* испитивања директног деловања екстракта на вирусне честице, недостају подаци о употреби одговарајућег фармацеутског облика код пацијената инфицираних HIV-ом. Ово истраживање конципирано је да испита поједине аспекте ефикасности и безбедности матичњака, првенствено у погледу фармакокинетских интеракција, деловања код поремећаја метаболизма угљених хидрата и липида, као и у редукцији оксидативног стреса.

2. ОПШТИ ДЕО

2.1 Вирус хумане имунодефицијенције

2.1.1 Кратка историја

Крајем седамдесетих и почетком раних осамдесетих година прошлог века запажена је повећана инциденца пнеумонија изазваних врстом *Pneumocystis* [1], као и других опортунистичких инфекција и Капоши саркома код претходно здравих особа [2]. Године 1981. описан је синдром стечене имунодефицијенције (енг. *acquired immune deficiency syndrome* – AIDS, фр. *syndrome d'immunodéficience acquise* – SIDA) [3], а тек 1983. године неколико мултидисциплинарних истраживачких група је показало да је за поменуто стање одговоран хумани ретровирус [4]. Након што је показано да су изоловани вируси заправо једна иста вирусна врста, предложен је назив вирус хумане имунодефицијенције, HIV (енг. *human immunodeficiency virus*) [5]. Исте године, Центар за контролу и превенцију болести (енг. *Centers for Disease Control and Prevention* – CDC) бележи првих 1000 случајева AIDS-а, уз морталитет од 39% [6]. До синтезе и примене првог антиретровирусног лека протекло је неколико година, па је тек 1987. године Америчка агенција за храну и лекове (енг. *U.S. Food and Drug Administration* – FDA) одобрила зидовудин за лечење особа инфицираних HIV-ом [7].

2.1.2 Специфичности вируса и репликативни циклус

Вирус HIV-а припада вирусима који садрже рибонуклеинску киселину (РНК) као генетски материјал. Таксономија вируса је дата у Табели 2.1. [8, 9].

Табела 2.1. Таксономија вируса хумане имунодефицијенције.

Regnum	Riboviria
Ordo	Ortervirales
Familia	Retroviridae
Subfamilia	Orthoretrovirinae
Genus	Lentivirus
Species	Human immunodeficiency virus

Вириони ове врсте садрже два идентична примерка једноланчане РНК спаковане у капсид, а присутан је и спољни омотач гликолипопротеинског састава. На основу генетских карактеристика и разлика у вирусним антигенима, вирус се дели на HIV-1 и HIV-2 [10].

Након уласка вирусних честица у људски организам, иницијални корак у репликативном циклусу је везивање за циљане ћелије [8]. Површински гликопротеин gp120 вириона, структура кључна за везивање вируса, интерагује са рецептором (енг. *cluster of differentiation 4 – CD4+*) присутним на ћелијама домаћина, првенствено Т лимфоцита [8, 11]. Након везивања ова два протеина долази до конформационих промена и откривања ко-рецептора на површини ћелије [8]. Два најзначајнија ко-рецептора су хемокински рецептори тип 5 (енг. *C-C chemokine receptor type 5 – CCR5*) и тип 4 (енг. *C-X-C chemokine receptor type 4 – CXCR-4*) [8, 10]. Ова интеракција даље доводи до конформационих промена у трансмембранском протеину gp41 и стварања хидрофобног канала између вирусне честице и ћелије, а којим се капсид преноси у цитоплазму ћелије домаћина [8, 11]. Помоћу хеликсне структуре настале од gp41 долази до фузије ћелијске и вирусне мембране [10, 11]. Након ослобађања генетског материјала у цитоплазму ензим реверзна транскриптаза (РТ) преводи једноланчану РНК у дволанчану дезоксирибонуклеинску киселину (ДНК) [8]. Настала ДНК се транспортује у нуклеус ћелије и помоћу ензима интегразе се интегрише са геномом хумане ћелије [8], чиме се завршава рана фаза репликације [11]. Даљи кораци у репликативном циклусу зависе од ћелије домаћина, јер следећи корак подразумева транскрипцију ДНК у РНК и транслацију у протеине вируса. Новосинтетисане компоненте вирусних честица се склапају већ у плазми ћелије, а формирање вириона се наставља уз његов постепени излаз из ћелије домаћина. Тек након деловања ензима протеазе долази до финалне обраде протеина и стварања инфективне форме HIV-а [10].

2.1.3 Антиретровирусни лекови

Од примене првог лека па до данас откривен је велики број лекова за терапију HIV-а. Сви процеси и структуре које су специфичне за репликативни циклус представљају погодну „мету“ за деловање антиретровирусних лекова, који су на основу механизма деловања подељени у шест група (Табела 2.2) [12, 13]. Неопходно је напоменути да велики број наведених лекова већ припада историји антиретровирусне терапије, због појаве нових, савременијих и ефикаснијих лекова.

Табела 2.2. Преглед антиретровирусних лекова

група лекова	механизам деловања	представници
нуклеозидни инхибитори реверзне транскриптазе-НИРТ	инхибиција синтезе ДНК ланца вируса на активном месту транскрипције	абакавир, диданозин, емтрицитабин, залцитабин, ламивудин, зидовудин, ставудин, тенофовир (у форми дизопроксил фумарата и алафенамид фумарата)
не-нуклеозидни инхибитори реверзне транскриптазе-ННИРТ	алостеричка модификација ензима РТ- везивање и формирање хидрофобног џепа у близини активног места транскрипције, са последичним смањеним афинитетом за ензим	невирапин, етравирин, делакирдин, ефавиренз, рилпивирин
инхибитори интегразе- ИИ	инхибиција процеса интегрисања вирусног ланца ДНК деловањем на комплекс ензим интегразе-вирусна ДНК	ралтегравир, долутегравир, елвитегравир, биктегравир
инхибитори протеазе- ПИ	инхибиција процеса матурације вириона блокањем протеолитичке обраде протеина	ампренавир, фосампренавир, атазанавир, дарунавир, индинавир, лопинавир, саквинавир, нелфинавир, типранавир
инхибитори фузије- ФИ	инхибиција процеса фузије деловањем на хеликсну структуру пореклом од gp41	енфувиртид
антагонисти ко-рецептора	алостеричка модификација у хидрофобној структури хемокинских ко-рецептора, са последичним ометањем везивања gp120 и одговарајућих структура на ћелији	маравирок

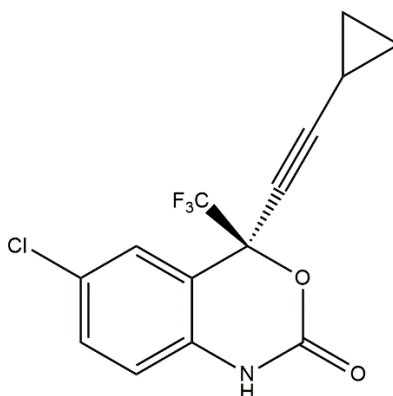
Легенда: ДНК- дезоксирибонуклеинска киселина; РТ- реверзна транскриптаза; гр- гликопротеин

Комбинована антиретровирусна терапија (енг. *combined antiretroviral therapy* – cART), раније позната као високо активна антиретровирусна терапија (енг. *highly active antiretroviral therapy* – HAART), подразумева примену антиретровирусних лекова из најмање две групе лекова, при чему основу („кичму“, енг. *backbone*) чине два антиретровирусна лека из групе НИРТ, којима се додаје по један од лекова из осталих група

[13]. Поред овога, примена неких лекова захтева и додатак бустера (ритонавира или кобицистата) који утичу на фармакокинетику датог лека [12]. Примена три антиретровирусна лека датира још из 1996. године, када је показано да се овим типом терапије постиже неопходан баланс између ефикасности и безбедности [14, 15].

2.1.3.1 Ефавиренз

Овај лек припада групи ННИРТ, а у терапију је уведен 1998. године, када је постао њен саставни део. Иако се више не налази у препорукама првог реда у данашњим водичима, повољна цена резултирала је да још увек велики број земаља у свету и даље користи овај лек. До релативно скоро, ефавиренз је био веома заступљен у антиретровирусној терапији у Србији. Према хемијској структури представља (S)-6-хлоро-4-(циклопропилетинил)-1,4-дихидро-4-(трифлуорометил)-2Н-3,1-бензоксазин-2-он (Слика 2.1) [16].



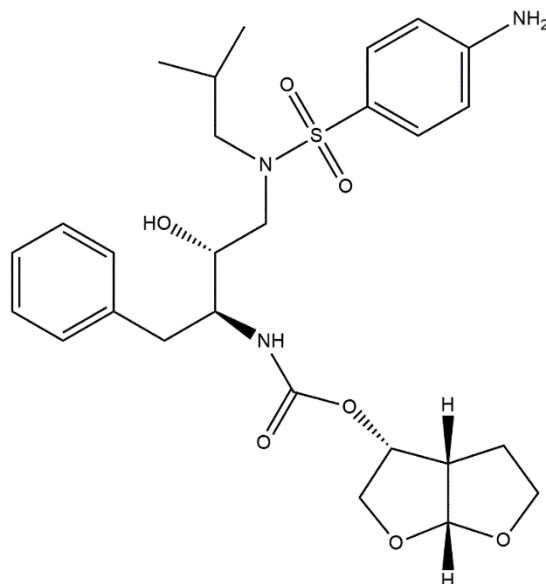
Слика 2.1. Хемијска структура ефавиренза.

Лек се примењује без хране, с обзиром да присуство хране може да повећа и површину испод криве (енг. *area under curve* – AUC) и максималну постигнуту концентрацију лека у крви (енг. *maximal concentration* – C_{max}). Карактерише га релативно дугачко полувреме елиминације (40-55 сати), висока вредност волумена дистрибуције (око 252 L), као и високи проценат везивања за протеине плазме (>99%). Пролазак кроз крвно-моздану баријеру је добар. У највећој мери се метаболише путем цитохрома P450 (енг. *cytochrome P450* – CYP) 2B6, а у мањој мери путем 3A4. Овај лек делује као индуктор изоензима 2C9, 2C19 и 3A4 [17, 18]. Ефавиренз има ниску генетску баријеру за резистенцију, која је обично последица тачкастих мутација на геному вируса. Укрштена резистенција на ефавиренз и остале лекове из групе ННИРТ се такође може јавити [18, 19].

Лек се примењује у дози од 600 mg, једном дневно, непосредно пред спавање. У случајевима нарушене јетрене или бубрежне функције, није неопходна корекција дозе [20].

2.1.3.2 Дарунавир

Уведен у терапију 2006. године, дарунавир представља најновији лек из групе ПИ [21]. По хемијској структури представља (3R,3aS,6aR)-хексахидрофууро[2,3-b]фуран-3-ил естар[(1S,2R)-3-[[4-аминофенил)сулфонил](2-метил пропил)амино]-2-хидрокси-1-(фенилметил)пропил] карбаминске киселине (Слика 2.2) [21].



Слика 2.2. Хемијска структура дарунавира.

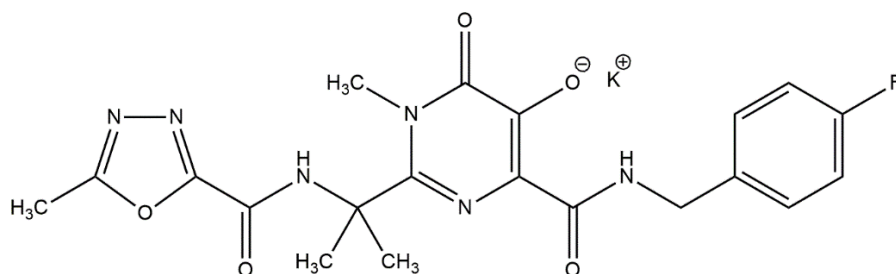
Услед интензивног метаболизма, дарунавир се формулише у комбинацији са неким од фармакокинетских бустера, ритонавиром или кобицистатом, који делују као инхибитори јетрених ензима. Овакво формулисање повећава биолошку доступност дарунавира уз смањење броја неопходних таблета (са 37% на 82%, уз примену ритонавира) [22, 23]. Препорука је да се дарунавир узима уз оброк, обзиром да повећава АУС и C_{max} за 30-40%. Максимална концентрација се постиже за 2,5-4 сата. Полувреме елиминације износи 15 сати уз ритонавир, односно 9,4 сата уз кобицистат. Волумен дистрибуције је релативно висок, $131 \pm 49,9$ L (са ритонавиром). Лек се у великој мери везује за протеине плазме (око 95%) [24, 25].

У поређењу са другим представницима групе ПИИ, дарунавир карактерише низак ниво резистенције [22]. Чак и у случајевима субоптималне адхеренце, дарунавир као део терапије омогућава супресију вирусне репликације [21], те је ово једини лек из групе ПИИ који се и даље користи.

Дарунавир формулисан са кобицистатом се примењује једном дневно, у дози од 800 mg (доза кобицистата износи 150 mg). Дарунавир са ритонавиром као фармакокинетским бустером се примењује два пута дневно, у дози од 600 mg (доза ритонавира је 100 mg), и овакав терапијски режим се обично примењује код пацијената који су већ примали антиретровирусну терапију, због сумње на стечену резистенцију. У случају нарушене бубрежне функције није неопходна корекција дозе, међутим, у случају поремећаја функције јетре примена је могућа код благог и умереног степена оштећења, док се код високог степена оштећења не препоручује [20].

2.1.3.3 Ралтегравир

Први лек из групе ИИИ, ралтегравир, уведен је у терапију 2007. године [26]. Према хемијској структури представља калијумову со N-[(4-флуорофенил)метил]-1,6-дихидро-5-хидрокси-1-метил-2-[1-метил-1-[[5-метил-1,3,4-оксадиазол-2-ил)карбонил]амино]етил]-6-оксо-4-пиримидинкарбоксамида (Слика 2.3) [27].



Слика 2.3. Хемијска структура ралтегравира.

Апсолутна биолошка расположивост није позната услед непостојања парентералног облика лека. Полувреме елиминације износи око 9 сати. Везивање за протеине плазме износи око 83%. Ралтегравир се метаболише преко јетре путем уридин дифосфат глукуронозилтрансферазе (енг. *uridine diphosphate glucuronosyltransferase* – UGT) 1A1 и том приликом настаје метаболит који се даље излучује путем урина и фецеса. Не утиче на CYP [28]. Концентрације лека веће за око 40% јављају се код појединаца код којих је, услед

генетског полиморфизма, активност ензима UGT1A1 смањена на око 30% активности. Ралтегравир има релативно високу генетску баријеру према развоју резистенције. После деценије примене, показано је да је резистенција могућа, али ретка [29, 30].

Лек се примењује у дози од 1200 mg, једном дневно (изузев код трудница инфицираних HIV-ом, где се дозира 400 mg, два пута дневно). У случајевима нарушене јетрене или бубрежне функције, није неопходна корекција дозе [20].

2.1.4 Проблеми савремене антиретровирусне терапије

Антиретровирусна терапија је ефикасна у случају репликације вируса, али примењени лекови нису у могућности да изврше ерадикацију вируса из хуманог организма. Примена једном започете терапије траје доживотно, а у случају комплијансе пацијента омогућава ефикасну супресију вирусне репликације [13]. Међутим, чак и најсавременија терапија је повезана са неколико проблема.

2.1.4.1 Доступност лекова

На глобалном нивоу, основни проблем јесте доступност антиретровирусних лекова. Процењује се да је закључно са јуном 2021. године, 37,7 милиона (опсег: 30,2-45,1 милиона) људи инфицирано HIV-ом. При томе, терапија је била доступна за 28,2 милиона људи. Посебно проблематична су питања доступности терапије деци и трудницама- процењује се да је до краја 2020. године свега половина инфициране деце старости до 14 година имала приступ лечењу (54%, опсег: 37-73% на глобалном нивоу); код трудница је стање нешто повољније, са 85% (опсег: 63->98%) трудница инфицираних HIV-ом са приступом лековима који би спречили трансмисију вируса на фетус. Иако се доступност терапије знатно повећала у поређењу са претходним годинама, будући кораци у борби против инфекције свакако треба да повећају доступност лекова и побољшају њихов избор управо у државама афричког континента које су најтеже погођене. Овакав циљ је и постављен у програму Уједињених Нација за борбу против AIDS-а, означеном као „95-95-95-95“ (95% људи у ризику од инфекције треба да има могућност приступа тестирању, 95% треба да зна свој HIV статус, 95% људи који знају да су инфицирани HIV-ом треба да буду на терапији и 95% људи на терапији треба има недетектабилну вiremију) [31, 32].

2.1.4.2 Резистенција на лекове

Као и код других антивирусних лекова, могућа је појава резистенције. Резистенција се јавља код свих група лекова, а посредована је различитим механизмима [33]. Чак и код пацијената који први пут започињу терапију, преваленца примарне резистенције на лекове се процењује на 5-15% [34]. Стопа мутације од 10^{-4} (1 у 10000 нуклеотида), у комбинацији са кратким репликативним временом и последично великом продукцијом вириона (2 милијарде честица дневно, у одсуству терапије) [10, 11] најзначајнији су вирусни фактори који доприносе резистенцији. Важну улогу у развоју резистенције имају и фармакокинетске карактеристике коришћених лекова, као и фактори везани за пацијента (комплијанса) [34, 35].

2.1.4.3 Нежељена дејства лекова

Лекови који се користе у терапији HIV-а повезани су са бројним нежељеним дејствима, али савремена терапија има мање нежељених ефеката у поређењу са првобитно коришћеним. Показано је да мањи спектар нежељених дејстава утиче на бољу комплијансу пацијента. Поред краткотрајних нежељених дејстава (попут осипа, мучнине, гађења, дијареје, итд.), данас се посебна пажња посвећује хроничној токсичности [36]. Најчешћа стања која су повезана са дуготрајним узимањем лекова савремене антиретровирусне терапије су остеопороза и фрактуре костију, обољења бубрега и јетре, метаболички поремећаји, као и болести кардиоваскуларног и централног нервног система [37]. Иако се сва наведена стања проналазе и у општој популацији, показано је да се она раније јављају код пацијената на антиретровирусној терапији [38].

2.1.4.3.1 Метаболички синдром

Проблематика хроничне инфламације и превременог старења пацијената (енг. *inflammaging*) је мултифакторијална и укључује дејства самог вируса и његових партикула, антиретровирусне терапије, као и класичне факторе ризика. Скуп метаболичких поремећаја (поремећај метаболизма глукозе и липида уз абдоминални - централни тип гојазности и хипертензију) са последичним развојем кардиоваскуларних болести и дијабетес мелитуса назива се метаболички синдром (енг. *metabolic syndrome* – MetS). Дефинисан и испитиван

упоредо са првобитном антиретровирусном терапијом, MetS је рано препознат код HIV-ом инфицираних особа на терапији [39].

Поред традиционалних фактора ризика препознатих и у општој популацији, показано је да код HIV-ом инфицираних особа додатни чиниоци развоја MetS-а представљају HIV *per se*, али и лекови који се користе за терапију инфекције [40]. Иако антиретровирусна терапија успешно сузбија репликацију вируса у крви, резервоари HIV-а у људском организму представљају ткивне и анатомске целине у које је пенетрација лекова ограничена. У њима се и даље одвија репликација HIV-а, што доводи до сталне имунске активације, и последично, хроничне инфламације која лежи у основи патогенезе развоја MetS-а [41]. Антиретровирусни лекови препознати су као фактор ризика још од почетка терапије [42], а механизми којима се објашњава појава метаболичких компликација, нарочито након употребе НИРТ и ПИ, обухватају митохондријалну дисфункцију, оксидативни стрес, измењену адипогенезу, експресију гена одговорних за метаболизам липида, као и поремећаје транспорта глукозе [43, 44]. Појава хипертензије последица је хроничне инфламације и штетног дејства на васкуларни систем на нивоу бубрега [45].

Метаболички синдром има више дефиниција (и критеријума постављених за дијагнозу) датих од стране релевантних интернационалних институција и удружења, попут Светске здравствене организације (енг. *World Health Organization – WHO*), Европске групе за проучавање инсулинске резистенције (енг. *European Group for the Study of Insulin Resistance – EGIR*), Међународне федерације за дијабетес (енг. *International Diabetes Federation – IDF*) и Америчког кардиолошког колеџа/Америчке асоцијације за срце (енг. *American College of Cardiology/American Heart Association – ACC/AHA*). Међутим, код пацијената са HIV инфекцијом, у процени MetS се најчешће користе критеријуми Националног едукативног програма за лечење холестерола одраслих, панел III, (енг. *National Cholesterol Education Program's Adult Treatment Panel III – NCEP:ATP III*) [46] приказани у табели 2.3.

Табела 2.3. Критеријуми за постављање дијагнозе метаболичког синдрома.

посматрани параметар	гранична вредност
гликемија	$\geq 6,1$ mmol/L
триглицеридемија	$\geq 1,7$ mmol/L
HDL-холестеролемија	мушкарци $< 1,0$ mmol/L жене $< 1,3$ mmol/L
крвни притисак	сistolни притисак ≥ 130 mmHg и/или дијастолни притисак ≥ 85 mmHg
обим струка	мушкарци ≥ 102 cm жене ≥ 88 cm

Легенда: HDL- липопротеини ниске густине

На основу различитих дефиниција MetS-а које су коришћене у студијама, преваленца је веома различита. Мета анализе сугеришу да овај проценат износи између 16,7 и 31,3 [47], мада се процењује да скоро половина особа инфицираних HIV-ом испуњава критеријуме за постављање дијагнозе MetS-а [45].

2.1.5 Фитотерапија HIV-а

Услед претходно наведених недостатака постоји константна потрага за новим, ефикасним и безбедним лековима против HIV-а. Ова потрага обухвата и тестирање препарата природног порекла. Од открића вируса извршено је *in vitro* тестирање великог броја биљака у погледу антиретровирусног деловања [48-50]. Ове студије су као један од циљева имале и налажење једињења одговорних за овакав ефекат. Међу тестираним, мањи је број примарних биомолекула, попут појединих протеина и полисахарида, а знатно је шири спектар секундарних биомолекула, попут алкалоида, кумаринских деривата, флавоноида, танина, терпенских једињења, алифатичних алдехида и кетона и других класа једињења [51]. Поред одређивања једињења одговорног за ефекат, *in vitro* испитивања су имала за

циљ и објашњење механизма деловања. Показано је да лековите биљке и претпостављени активни принципи интерферирају са раним фазама репликативног циклуса HIV-а, првенствено преко инхибиције везивања вируса за циљне ћелије и уласка у исте, али је показано и *in vitro* деловање на ензиме РТ и интегразу [52, 53]. Поред *in vitro* потврђеног антиретровирусних дејства, литературни наводи су показали антиретровирусне ефекте лековитих биљака коришћених од стране HIV-ом инфицираних особа. Реферисани су случајеви особа инфицираних HIV-ом или у стадијуму AIDS-а, који су број копија вируса (енг. *viral load*) одржавали на недетектабилном нивоу [54, 55]. Такође, показано је да се применом лековитих биљака може одржати или чак повећати број CD4+ Т- лимфоцита [54]. Нажалост, већина извештаја о фитотерапији HIV-а нису резултати контролисаних, рандомизованих клиничких студија, тако да није поуздано утврђено да ли су ови пацијенти ретка подгрупа која одржава времију недетектабилном без лекова (енг. *elite controllers*) или су коришћени фитопрепарати заиста показали свој антиретровирусни učinak [56]. Иако до сад тестирани биљни препарати нису у могућности да замене и елиминишу антиретровирусну терапију, овакви извештаји свакако дају основу за даља испитивања.

Процент HIV-ом инфицираних пацијената који поред прописане конвенционалне терапије истовремено користе лековито биље широко варира - од око 10% у Сједињеним Америчким Државама до око 80% у Танзанији [57]. Иако су истраживања покушала да нађу корелацију између појединих социо-демографских и културолошких одредница или клиничко-биохемијских параметара са применом биљака, показано је да не постоји одређени профил HIV-ом инфицираних особа који истовремено примењује лековите биљке и конвенционалну терапију [58]. Сматра се да су предности примене биљака многобројне. Поједине ретроспективне опсервационе студије указују да пацијенти који поред конвенционалне антиретровирусне терапије користе и додатну биљну терапију имају нижи морталитет, дужи животни век и бољи квалитет живота него пацијенти на само конвенционалној терапији [59, 60]. Биљке такође имају потенцијал да умање нежељене ефекте антиретровирусне терапије [61].

Међутим, различити биљни препарати имају потенцијал да ступе у интеракције са конвенционалним лековима, а ове интеракције су најчешће фармакокинетског карактера [62]. Наведене интеракције могу се десити и између појединих активних принципа биљака и антиретровирусних лекова. Као последица фармакокинетске интеракције, могућа су два

исхода. Први подразумева смањење концентрације антиретровирусних лекова, што за последицу има повећање броја копија вируса у крви и/или селекцију резистентних сојева HIV-а, односно губитак терапијске ефикасности ових лекова. Други исход је повећање концентрације антиретровирусних лекова, при чему може доћи до испољавања токсичних ефеката лека и последично негативне комплијансе пацијента прописаном терапијском режиму [63]. Антиретровирусни лекови се метаболишу најчешће путем CYP ензима, а код појединих лекова и другим метаболичким путевима (нпр. глукуронидацијом). Ови лекови могу да буду и индуктори и инхибитори јетрених ензима (укључујући и процесе аутоиндукције и аутоинхибиције) [64]. Већина интеракција биљака и антиретровирусних лекова одвија се на нивоу CYP, а мање на нивоу *P*-гликопротеина (енг. *p-glycoprotein* – *p-gp*) [64], на нивоу ензима друге фазе метаболизма [65] или у фази елиминације [64]. Комбиновање биљака и конвенционалних лекова повећава вероватноћу и спектар могућих интеракција. За разлику од конвенционалних лекова који имају најчешће један активни принцип, различити биљни производи имају већи број једињења која могу испољити фармаколошки ефекат, али и ступити у интеракције [63].

Услед релативно ограниченог броја публикованих резултата клиничких студија које испитују интеракције медицински значајних биљака са антиретровирусном терапијом, неки основни подаци о безбедности истовремене употребе добијају се из *in vitro* студија. Такође, од значаја су и прикази случајева који могу да укажу на, до тад, неочекивану интеракцију. Неке од најчешће коришћених биљака од стране HIV-ом инфицираних особа су проучене у погледу интеракција са антиретровирусним лековима, те постоје препоруке о њиховом (не)комбиновању [66]. Неке од најпознатијих и најзначајнијих биљака у овом погледу подразумевају: блажени чкаљ, сикавицу или гујину траву (*Silybum marianum* (L.) Gaertn., Asteraceae), кантарион или госпину траву (*Hypericum perforatum* L., Hypericaceae), бели лук (*Allium sativum* L., Alliaceae), канадски љутић (*Hydrastis canadensis* L., Ranunculaceae), ехинацеу (*Echinacea* sp. Moench, Asteraceae), гинко (*Ginkgo biloba* L., Ginkgoaceae), валеријану или одољен (*Valeriana officinalis* L., Valerianaceae), женшен (азијски- *Panax ginseng* C.A. Meу., Araliaceae и сибирски- *Eleutherococcus senticosus* (Rupr. & Maxim.) Maxim., Araliaceae), као и бројне друге [65, 66].

2.2 Матичњак

2.2.1 Опис биљке и дроге

Матичњак (лат. *Melissa officinalis* L.; енг. lemon balm, common balm, sweet balm) представља ароматичну биљку из породице уснатица (лат. Lamiaceae, раније Labiatae), чија је таксономија дата у Табели 2.4 [67].

Табела 2.4. Таксономија матичњака.

Regnum	Plantae
Divisio	Magnoliophyta
Classis	Magnoliopsida
Subclassis	Lamiidae
Ordo	Lamiales
Familia	Lamiaceae
Subfamilia	Nepetoideae
Genus	<i>Melissa</i> L.
Species	<i>Melissa officinalis</i> L.

Матичњак је могуће наћи у многим деловима света, али се подручја источног Медитерана, јужне Европе, западне Азије, Кавказа и северног Ирана сматрају нативним [67-69]. Може да се гаји, али га је такође могуће наћи у природи, поред путева [67, 70]. Биљка расте на песковитим и глиненним земљиштима, при рН вредностима 5-7. Расте и на директној сунчевој светлости, али и у хладу, када су цела биљка и листови крупнији. Успешно расте при температурном опсегу 15-35°C и захтева 500-600 mm кише или адекватну иригацију [68, 70].

Melissa officinalis (Слика 2.4) је вишегодишња зељаста биљка, чија висина обично варира између 30 и 125 cm. Корен биљке је разгранат, са доста латералних коренова, док је стабљика усправна, гола или са ситним длачицама, избраздана, четвороугаоног облика. Цветови су бели или светлоружичасти, обично смештени у групацијама од 4 до 12 комада. Специфично груписање круничних и чашичних листића у такозвану горњу и доњу усну објашњава народни назив ове породице биљака. У цвету се налазе 2 прашника и тучак, сачињен из две карпеле. Плод је орашица са 4 семена, које је ситно (1-1,5 mm) и обојено тамнобраон или црно [68, 69, 71].

Дрогу (лат. *Melissae folium*) чине листови матичњака (Слика 2.4). У свим монографијама листови су описани као овалног или срцоликог облика, са петелкама, дужине до 8 cm и ширине до 5 cm. Лисна ламина је танка, са горњом површином тамнозелене боје, и доњом која је нешто светлија, са израженим и уздигнутим главним и бочним нервима, али и истакнутом основном мрежастом нерватуром. Обод листа је крупније назубљен. Дрога је ароматичног мириса и укуса, налик на лимун. Спрашена биљна дрога је зеленкасте боје [69, 72].



Слика 2.4. Изглед матичњака (лево) и изглед дроге (десно).

2.2.2 Примена матичњака

Матичњак има дугу историју примене у медицинске сврхе, а најстарији запис датира из 300. године п.н.е, у Теофрастовом делу „Историја биљака“ (лат. *Historia Plantarum*) [73]. Током историје, забележене су примене матичњака код најразличитијих стања и обољења као што су регулација менструације, гихт, за лечење зубобоље, против меланхолије, у третирању чирева и рана, код анемије, за лечење епилепсије, деменције, тремора, вртоглавице депресије, психозе, против ћелавости, као антидот код тровања гљивама [67, 68, 73] и бројне друге.

Према монографији Светске здравствене организације, једина примена подржана резултатима клиничких истраживања је екстерна примена код симптома херпес лабијалиса [69]. Поред овога, поједине фармакопеје и традиционална медицина матичњак најчешће примењују код гастроинтестиналних поремећаја (као карминатив и спазмолитик) и као седатив/хипнотик код поремећаја сна изазваних нервозом [69, 72]. Етноботаничке студије

спроведене на неколико планина у различитим географским регионима Србије су указале да су биљке из породице *Lamiaceae* најчешће коришћене на нашим просторима. У резултатима анкета, матичњак је нашао примену као седатив, тоник, за побољшање расположења, код благих тензионих мигрена, али и као антивирусни лек, дигестив, спазмолитик и код акутног холециститиса [74, 75]. Анкета о употреби биљних суплемената и лекова спроведена у општој популацији становника Новог Сада није регистровала матичњак међу често коришћеним биљкама [76].

2.2.3 Биолошка и фармаколошка деловања матичњака

Савремене студије имају за циљ да испитају деловање матичњака у бројним патолошким стањима и обољењима. Различити благотворни ефекти су забележени у студијама које обухватају и *in vitro* испитивања и студије на животињама, али и у појединим клиничким испитивањима.

2.2.3.1 Антивирусно деловање

У традиционалној медицини матичњак се често спомиње као биљка са антивирусним својствима [67, 68]. Најчешће се користи у терапији инфекција изазваних херпес вирусом (енг. *herpes simplex virus* – HSV). Резултати *in vitro* истраживања различитих екстраката (првенствено водених и етанолних), као и етарског уља показали су њихову активност против HSV-1 и HSV-2 [77-82]. Претпостављени механизам деловања је инхибиција адсорпције и пенетрације вируса у циљне ћелије [77, 78, 81]. Наведени механизам деловања је другачији од механизма деловања ацикловира, најчешће коришћеног лека у терапији инфекције херпес вирусом, што га чини потенцијалном алтернативом у случајевима сојева резистентних на наведени конвенционални лек [80]. Оваква претпоставка је потврђена у клиничком испитивању ефикасности креме са екстрактом матичњака код пацијената са рекурентним херпес лабијалисом. Примена овакве фармацеутске формулације са циљаним деловањем је показала значајно смањење симптома и скраћење времена трајање херпеса [83]. Поред HSV, *in vitro* антивирусно деловање матичњака је тестирано и на другим вирусима. Активност екстраката је потврђена и код ентеровируса 71 [84], птичјег грипа А (H9N2) [85] и хуманог грипа (сој H1N1) [86].

2.2.3.1.1 Антиретровирусно деловање

Поред свих претходно поменутих вируса, активност матичњака је тестирана и на HIV. Иницијално тестирање већег броја биљака из породице уснатица је издвојило матичњак као изузетно потентну биљку. Водени екстракт листа је показао анти-HIV-1 активност при ниској концентрацији (енг. *effective concentration* – EC₅₀) од 3,8 µg/mL, док је цитотоксична доза била 21 пута већа [87]. Ови резултати су потврђени у још једној студији која је показала ефикасну инхибицију репликације вируса у култури тонзилоцита (*ex vivo* модел инфекције) и изостанак цитотоксичности у продуженој инкубацији (16 дана) [88]. У случају *in vitro* симулиране хроничне инфекције вирусом HIV-а, матичњак је опет показао активност, али у нешто вишој концентрацији (EC₅₀=62 µg/mL). Насупрот томе, изузетно ниска концентрација (EC₅₀= 1,6 µg/mL) је деловала инхибиторно на екстрацелуларну РТ [87].

Детаљно је испитан и механизам деловања матичњака. У експериментима којима се различитим редоследом додају вирусна суспензија, биљни екстракт и култура ћелија (енг. *time-of-addition (T-o-A) studies*) [53], утврђено је да водени екстракт матичњака показује активност према структурама одговорним за везивање вируса за циљне ћелије и пенетрацију у исте. Активност је показана и код сојева који су резистентни на енфувиртид. Додатни експеримент је показао да деловање на вирионе није литичко, али доводи до повећања густине вирусних честица. Истраживачи су претпоставили да је ова појава последица интеракције активних компоненти присутних у екстракту са макромолекулима HIV-а (протеинима, гликанима или липидима), али ова хипотеза није потврђена експериментима [88]. Сви изведени закључци су у складу са резултатима већине студија анти(ретро)вирусног деловања екстраката и једињења пореклом из биљака породице Lamiales: активност је брза, дозно зависна и посебно изражена код вирусних врста са омотачем [53].

2.2.3.2 Деловање на метаболизам липида и угљених хидрата

Студије на животињама указале су на позитивне ефекте примене матичњака у изазваним поремећајима метаболизма липида и угљених хидрата. Слично другим студијама, испитивани су етарско уље, водени и етанолни екстракти. Међу позитивним исходима у метаболизму липида наводе се редукција укупних липида [89], укупног холестерола (енг. *cholesterol* – HOL) [89-94], липопротеина ниске густине (енг. *low density lipoproteins* – LDL)

[91, 94], липопротеина веома ниске густине (енг. *very low density lipoproteins* – VLDL) [91] и триглицерида (енг. *triglyceride* – TG) [90, 91, 94-97], као и повећање нивоа липопротеина високе густине (енг. *high density lipoproteins* – HDL) [96]. Механизми којима се објашњавају ефекти у метаболизму липида су повећана синтеза жучних киселина, повећана оксидација масних киселина и њихова смањена синтеза, али и смањена синтеза HOL-а [90]. На хистолошком нивоу потврђено је инхибиторно деловање на ангиогенезу и матриксне металопроотеиназе у адипозном ткиву, а смањен је проценат масног ткива и величина адипоцита [95]. У студијама на пацијентима је такође забележено позитивно деловање матичњака; чија је примена довела до смањења серумских TG [98-100], HOL-а [98, 100] и LDL-а [101] и повећања нивоа HDL-а [102].

На нивоу метаболизма угљених хидрата, примена матичњака је резултовала редукцијом концентрације глукозе у крви и побољшањем толеранције на глукозу [92, 97, 103]. Механизам деловања је посредован ефектом на ензиме значајне у метаболизму угљених хидрата- повећано преузимање глукозе, повећање метаболизма у јетри и инхибиција процеса глуконеогенезе [97]. Позитивни ефекти су потврђени и код пацијената са дијабетесом типа 2, код којих је утврђено значајно смањење нивоа глукозе наше и смањење нивоа гликозилираног хемоглобина HbA1c [102], као и значајно смањење нивоа глукозе наше код пацијената са поремећајима срчаног ритма [100].

2.2.3.3 Хепатопротективно деловање

Хепатопротективни ефекти матичњака се често испитују заједно са деловањем ове биљке на метаболизам угљених хидрата и липида. Тестирање се најчешће врши у претклиничким студијама на животињама. Позитивни ефекти примене матичњака најчешће се прате мерењем активности јетрених ензима. Забележене су редукције нивоа ензима аспартат аминотрансферазе (енг. *aspartate aminotransferase* – AST), аланин аминотрансферазе (енг. *alanine aminotransferase* – ALT) и алкалне фосфатазе (енг. *alkaline phosphatase* – ALP) у крви [89, 93, 104]. Примена матичњака је резултовала повећаном количином јетреног глутатиона [89] и смањеном количином депонованих TG, уз претпостављену повећану β -оксидацију масних киселина у самој јетри [95]. Хистолошки посматрано, успешно су редуковане или у потпуности спречене дегенеративне промене у јетреном ткиву као што су вакуолизација, појава пикнотских језгара и руптура ендотела централне вене [89]. У хуманим студијама

благодотворни ефекти на нивоу јетре су забележени у смислу смањења нивоа AST и ALT код пацијената [98, 99, 101].

2.2.3.4 Антиоксидативно деловање

Можда најчешћа истраживања биолошког потенцијала представљају испитивања антиоксидативне активности. Само у последњој деценији, бројна и разноврсна *in vitro* испитивања су окарактерисала матичњак као изузетно ефикасан антиоксидант [67, 68, 70]. Поред изражене активности у тесту неутрализације синтетског 2,2-дифенил-1-пикрилхидразил радикала (енг. *2,2-diphenyl-1-picrylhydrazyl* – DPPH), екстракти добијени употребом различитих растварача показали су активност и у тесту неутрализације хидроксил радикала, као и активност у тесту инхибиције липидне пероксидације [105]. Поред *in vitro* испитивања, матичњак је тестиран и *in vivo*. Претклиничке студије на животињама показале су смањење нивоа липидне пероксидације [89, 106, 107] и повећање нивоа глутатиона [89, 106], повећање ензима антиоксидативне заштите у крви [108], али и смањење интензитета липидне пероксидације у појединим деловима мозга експерименталних животиња [109, 110]. У испитивањима на људима, примена матичњака резултовала је повећањем укупног антиоксидативног капацитета [98], повећањем укупних тиола [98], повећањем активности ензима антиоксидативне заштите (супероксид дисмутазе, глутатион пероксидазе и каталазе) [111] и смањењем маркера оштећења изазваног оксидативним стресом (продуката липидне пероксидације и 8-хидрокси-2-деоксигуанозина) [111].

2.2.4 Фармацеутски облици на тржишту и дозирање

Поред претходно описане дроге *Melissae folium*, на тржишту је могуће наћи и спрашену дрогу, али и суве и течне екстракте [69]. Матичњак се на територији Србије може наћи у дозираним фармацеутским облицима попут капсула и тинктура, где се често комбинује са другим биљкама познатим по седативном и анксиолитичком деловању (нпр. валеријана, хмељ- *Humulus lupulus* L., Cannabaceae, итд.), који су од стране Агенције за лекове и медицинска средства углавном регистровани као дијететски суплементи [112].

Препоручене дозе различитих облика матичњака дате су у Табели 2.5 и односе се на одрасле особе, старије од 18 година [69, 113, 114].

Табела 2.5. Дозирање матичњака за различите облике.

орална примена- код гастроинтестиналних поремећаја и као седатив/анксиолитик	
инфуз	1,5-4,5 g биљне дроге, неколико пута на дан
тинктура (1:5 у 45% етанолу)	2-6 mL, три пута на дан
течни екстракт (1:1 у 45% етанолу)	2-4 mL, три пута на дан
течни екстракт	60 капи на дан
суви екстракт (5-6:1)	0,3-0,9 g на дан
топикална примена- код херпес лабијалиса	
крема	1% стандардизованог екстракта (70:1), до 4 пута на дан, током 5 до 10 дана, не дуже од 14 дана
инфуз	2-3 g, неколико пута на дан

2.2.5 Безбедност

Матичњак се сматра једном од безбеднијих биљака за примену. О овоме сведочи и његов статус безбедне биљке (енг. *generally recognized as safe* – GRAS) према FDA, што значи да је безбедан за примену у нормалним, уобичајеним начинима и условима примене [115]. Према доступним подацима, ефикасном и безбедном се сматра орална примена екстракта матичњака у дози од 600 mg дневно, током 8 недеља [68]. Забележене су и дуже примене матичњака код пацијената, нпр. у трајању од 12 недеља [99, 102]. Приликом примене матичњака током испитивања, и код испитивања појединачних доза и код примене током дужег временског периода, праћени су различити параметри (најчешће комплетна крвна слика, одабрани биохемијски параметри, крвни притисак, број откуцаја срца итд.). Резултати ових испитивања нису указали на штетно деловање матичњака под датим условима примене [98, 102, 116-118]. Међутим, прекорачене дневне дозе биљног екстракта су показале одређене нежељене ефекте, па је тако доза од 900 mg изазвала смањење пажње код испитаника, а она од 1200 mg је довела до промена у електричној активности мозга [113].

Постоје препоруке да се матичњак не комбинује са појединим групама лекова као што су седативи, анксиолитици и хипнотици, због адитивног деловања, а пацијентима се саветује и посебан опрез код вожње и управљања машинама и моторним возилима [113]. *In vitro* тестови спроведени са екстрактом матичњака су указали на његов потенцијални ефекат на

штитаству жлезду, посредован ометањем везивања тирео-стимулишућег хормона (енг. *thyroid stimulating hormone* – TSH) за одговарајући рецептор, али и директним деловањем на протеински део молекула [119]. Због тога се не препоручује се његова примена код хипотиреозе, али ни код пацијената са глаукомом, услед могућности повећања интраокуларног притиска [113].

Према доступној литератури, матичњак није показао интеракције са конвенционалним лековима које се дешавају на нивоу метаболизма посредованог СYP ензимима. Теоретска могућност интеракција на овом нивоу базира се на благој инхибицији ензима цитохрома СYP3A4 од стране розмаринске киселине, једињења заступљеног у матичњаку [120]. За ово једињење је такође забележено да инхибише ниво р-гр, значајног за дистрибуцију појединих лекова [121].

Услед недовољно података, примена матичњака се не препоручује у трудноћи и лактацији, нити код педијатријске популације [69, 113].

2.2.6 Хемијски састав матичњака

Хемијска испитивања матичњака су указала на присиство великог броја примарних и секундарних биомолекула у различитим врстама екстраката. Претпостављени активни принципи се могу поделити у неколико група: етарско уље, тритерпени, флавоноиди и фенолне киселине [68].

2.2.6.1 Етарско уље

У поређењу са другим биљкама ове породице, матичњак садржи нешто нижи проценат етарског уља, између 0,02-0,37% [69, 70] и управо из овог разлога оно има нешто вишу цену [70]. Бројна испитивања су показала варирања у појединачним компонентама етарског уља [69], а сматра се да су најзначајније оксидовани монотерпени - цитрали (смеша изомера цитрала а- гераниал и цитрала б- нерал) и цитронелал, који су одговорни за арому која подсећа на лимун [68, 69]. Остала једињења која се могу наћи су монотерпени гераниол, изогераниол, α - и β -пинен, линалол, нерол, нерилацетат, борнеол, фарнезилацетат, метилцитронелат, оцимен, сесквитерпени α - и β -кариофилен, кариофилен-оксид, хумулен и еремофилен, алифатична једињења као што је децидиенал, итд. [67-70, 113]. Процењује се да преко 40% овог уља чине моно-, а преко 35% сесквитерпени [69]. Етарско уље

матичњака сматра се одговорним за антиинфективно деловање: антибактеријско, антифунгално [68, 122] и антивирусно [53, 77, 82].

2.2.6.2 Тритерпени

Два најпознатија једињења из групе тритерпена нађена у матичњаку су урсолна и олеанолна киселина [67, 69, 113]. Количине ових тритерпена, са 0,16% олеанолне и 0,67% урсолне киселине, сврстале су ову дрогу у ред биљних сировина богатих наведеном класом секундарних биомолекула [123]. Урсолна киселина се често карактерише као потентно једињење које би своју примену могло наћи у превенцији и терапији карцинома, код инфламаторних стања, али и као антимикуробни агенс [124].

2.2.6.3 Флавоноиди

Флавоноиди су најзаступљенији у надземним деловима биљке [68], а њихов садржај у осушеном листу износи око 0,5% [67]. У матичњаку су присутни:

1. флавоноиди апигенин и лутеолин и њихове гликозиде апигенин 7-О-глукозид и апигенин 7-О-β-D-глукопиранозид, односно лутеолин 7-О-глукозид, лутеолин 7-О-β-D-глукопиранозид-3'-О-β-D-глукуронопиранозид, лутеолин 7-О-β-D-глукуронопиранозид и лутеолин 3'-О-β-D-глукуронопиранозид
2. флавоноиди рамноцитрин и гликозиди флавонола изокверцитрин и рутин
3. флаванолни катехин и епикатехин и
4. флаванони хесперетин и нарингенин и њихови гликозиде хесперидин и нарингин, као и гликозид ериодиктиол-7-О-глукозид [68, 113].

Ови секундарни биомолекули, чија се повећана количина у биљци јавља као последица абиотичког стреса [125], сматрају се одговорним за бројна биолошка и фармаколошка деловања матичњака, али и других представника ове породице, попут антиоксидативног, антиинфективног, антиалергијског, антиканцерског и других [68].

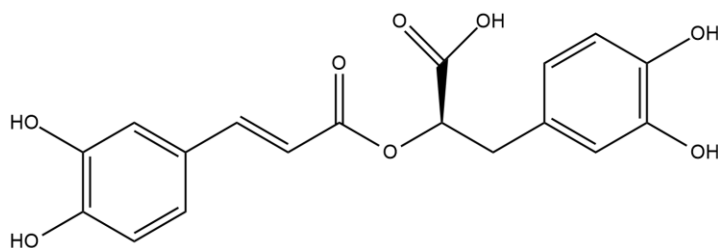
2.2.6.4 Фенолне киселине

Матичњак представља добар извор фенолних киселина, нарочито деривата хидроксициметне киселине. У листу и надземним деловима биљке су детектоване кафена, розмаринска, хлорогенска, гална, елагна, *p*- и *m*-кумаринска, литоспермична киселина А,

салвианоличне киселине А, Б, Ц и Ф, мелитричне киселине А и Б, протокатехинска и друге киселине [67-69, 113]. Специфична структура ових једињења чини их одличним антиоксидантима, а сматрају се и значајним за превенцију кардиоваскуларних болести, карцинома и нежељених ефеката хемотерапије [126]. Бројна истраживања су показала да управо ова група једињења има улогу у регулацији метаболичког синдрома, која се испољава преко антиинфламаторног деловања, регулације метаболизма липида и угљених хидрата и регулације телесне масе [127].

2.2.6.4.1 Розмаринска киселина

Према структури, розмаринска киселина (РК) (Слика 2.5) представља естар две фенолне киселине, кафење и (R)-(+)-3-(3,4-дихидроксифенил)млечне киселине.



Слика 2.5. Хемијска структура розмаринске киселине.

Свој назив је добила по рузмарину (лат. *Rosmarinus officinalis* L., Lamiaceae) из којег је први пут изолована 1958. године. Розмаринска киселина се понекад назива и танином уснатица (нем. *Labiaterengbstoffe*), јер се може наћи у биљкама породице Lamiaceae, али је ограничена само на представнице потпородице Nepetoideae. Њено присуство није ограничено на ову потпородицу, те се може наћи и у другим породицама виших биљака (нпр. Boraginaceae), али и у појединим алгама, маховинама и папратима [128-131].

Иако се не може сматрати хемотаксономским маркером [128, 129], РК се у фармацији користи као једињење на основу којег се испитује идентитет и квалитет дроге или екстракта матичњака. Према прописима, садржај укупних деривата хидроксициметне киселине изражених на РК у дроги не треба да буде мањи од 4% [69]. За квалитативну и квантитативну анализу овог једињења у биљном материјалу користе се различите методе екстракције, сепарације и детекције. Већи број техника екстракције је указао да не постоји

универзалан протокол, већ да услови анализе првенствено зависе од коришћене биљне сировине и начина припреме. Интересантно је да је једна од највиших забележених количина РК била је управо у мацерату листа матичњака, са 72,6 mg у 1 g сировог екстракта [130, 132]. Приликом детекције путем високоефикасне течне хроматографије, најчешће је коришћен диодни детектор (енг. *diode array detector* – DAD).

Биолошка и фармаколошка активност РК детаљно је испитана у бројним и различитим *in vitro* студијама, где су показане активности у најразличитијим стањима и обољењима [130, 133-135]. Поред тога, спроведене су и клиничке студије које су испитивале примену РК [136] или, знатно чешће, екстракта или производа који су садржали већу количину РК [137-139]. Поред изузетне ефикасности, потврђена је и безбедност овог једињења и препарата који га садрже.

2.2.6.4.1.1 Фармакокинетика розмаринске киселине

Розмаринска киселина има више потенцијалних начина примене у људском организму. До сада је показана могућност топикалне [140, 141], интравенске [116], интраназалне [142], пулмонарне [143] и окуларне примене [144]. Међутим, с обзиром на присутност у зачинима, чајевима за уживање и дозираним фармацеутским облицима, најзначајнији пут примене је перорални. Овако примењена, РК подлеже интензивном метаболизму од стране гастроинтестиналног тракта. Показано је да на количину РК утичу рН вредност и дигестивни ензими одређеног сегмента дигестивног пута [135]. Поред тога, спроведени *in vitro* експерименти указују на метаболисање РК и других фенолних и полифенолних једињења од стране интестиналних пробиотских бактерија, разграђивањем на простије јединице, попут фенолних киселина, које се даље лакше ресорбују [133, 145, 146]. Сматра се да се само мањи део РК ресорбује у непромењеном облику парацелуларним транспортом у ентероцитима [147].

У људском организму, РК се метаболише углавном реакцијама конјугације. У плазми се поред РК, могу детектовати њени конјугати са глукуронском киселином и/или сулфатом [117, 148]. Значајан метаболит представља и метил-РК, а присутни су и њени сулфо- и глукуронид-конјугати [148]. Проучен је и метаболизам кафеине киселине, као дела молекула РК који настаје раскидањем естарске везе. Одговарајућим биохемијским реакцијама, из кафеине киселине могу да настану *m*-кумаринска, ферулна, протокатехинска, *p*-

хидроксибензоева и друге киселине, као и њихови одговарајући конјугати [135]. Метаболизам и елиминација РК се релативно брзо одвијају. Приликом уношења појединачне дозе, C_{\max} у плазми се постиже већ за 0,5-3 сата (истовремено узимање хране продужава време неопходно за постизање C_{\max}) [135]. Студије на животињама су показале да је РК могуће детектовати у бројним органима, иако је пролазак кроз крвно-мождану баријеру ограничен [149, 150]. Елиминација РК и метаболита се у највећој мери одвија реналним путем. Око 75% РК и метаболита се елиминише путем урина за око 6 сати, мада је поједине метаболите могуће детектовати у траговима и до 48 сати касније [148].

3. ЦИЉЕВИ И ХИПОТЕЗЕ

Постављене су следеће хипотезе:

1. Примена матичњака показује адитивно деловање са конвенционално прописаним антиретровирусним лековима, посредством благе инхибиције јетрених ензима и последичним повећањем концентрације испитиваних антиретровирусних лекова.
2. Примена матичњака има повољно дејство на метаболички синдром кроз нормализацију гликемије и инсулинемије и регулацију липидног профила.

Циљеви дисертације су следећи:

1. Испитати адјувантно деловање матичњака у комбинацији са антиретровирусном терапијом који садржи један од наведених лекова: ефавиренз, дарунавир и ралтегравир.
2. Утврдити позитивне ефекте примене матичњака у метаболичком синдрому код HIV-ом инфицираних пацијената.

4. МАТЕРИЈАЛ, ПАЦИЈЕНТИ И МЕТОДЕ

4.1. Препарат матичњака

У испитивању је коришћен препарат „Матичњак 300 mg“, произвођача Анафарм, Београд. Наведени производ регистрован је као дијететски суплемент и одобрен од стране Министарства здравља Републике Србије. У паковању се налази 30 капсула беле боје. Према декларацији на паковању у састав препарата улази суви екстракт листа матичњака (*Melissa officinalis*, 5-8:1) стандардизован на минимум 7% розмаринске киселине и минимум 14% хидроксициметних деривата. Остали декларисани састојци су средство за повећање запремине (изомалт), желатин, средство против згрудвавања (силицијум диоксид) и боје (титан диоксид и гвожђе оксид жути). Садржај капсуле је у форми праха наранџасто-смеђе боје.

4.2. Хемијска карактеризација активних принципа препарата матичњака

Са циљем провере декларације, али и добијања података о хемијском саставу дијететског суплемента, спроведена је карактеризација хемијског састава претходно описаног препарата матичњака. Анализе су урађене на Заводу за фармацију Медицинског факултета Универзитета у Новом Саду.

4.2.1. Прелиминарна хемијска карактеризација

У оквиру прелиминарне хемијске анализе одређен је садржај укупних фенола и укупних флавоноида. За потребе ових анализа, од дијететског суплемента (описаног у ставки 4.1) направљен је 10% водени раствор који је по потреби разблаживан.

Укупни феноли су одређени помоћу Фолин-Ћокалту (енг. *Folin-Ciocalteu* – FC) реагенса према претходно описаној методи [151]. Метода се заснива на реакцији фосфомолибдата и фосфотунгстата са фенолним једињењима у базној средини при чему настаје плаво обојени комплекс чија се апсорбанца мери на 760 nm. Резултат је изражен као mg еквивалената галне киселине (енг. *gallic acid equivalents*– GAE) у 1 капсули.

Укупни флавоноиди су одређени помоћу $AlCl_3$ према претходно описаној методи [151]. Метода се заснива на реакцији алуминијумових јона са флавоноидима у киселој средини при чему настаје жуто обојени комплекс чија се апсорбанца мери на 430 nm. Резултат је изражен као mg еквивалената кверцетина (енг. *quercetin equivalent* – QE) у 1 капсули.

За потребе претходно наведених спектрофотометријски мерења коришћен је апарат Shimadzu UV 1800 spectrophotometer (Shimadzu Corporation, Кјото, Јапан). Сва мерења су извршена у три понављања.

4.2.2 Детаљна хемијска карактеризација

Садржај секундарних метаболита у суплементу на бази екстракта матичњака је одређен претходно описаном методом [152] заснованој на техници високоефикасне течне хроматографије (енг. *high performance liquid chromatography* – HPLC). Анализа је спроведена на апарату Agilent HP 1100 HPLC куплованим са DAD (Agilent Technologies, Валдброн, Немачка).

Узорци дијететског суплемента (описаног у ставки 4.1) растворени су у фосфатном пуферу који је добијен растварањем 8 g NaCl, 0,2 g KCl, 1,44 g Na_2HPO_4 и 0,24 g KH_2PO_4 у 1 литри стерилне воде, уз подешавање рН=7,4. Раздвајање компоненти је извршено на колони Nucleosil C18 (5 μ m x 4,6 mm x 250 mm), термостатираној на 30°C. Мобилну фазу А представљала је 1% (v/v) мравља киселина, док је мобилна фаза В била метанол; примењена је градијентна елуција по следећем програму: 0-10 min, 10-25 % В; 10-20 min, 25-45 % В; 20-30 min, 45 % В; 30-35 min, 45-70 % В; 35-40 min, 70-100 % В; 40-43 min, 100 % В. Проток мобилне фазе износио је 1 mL/min. Хроматограми су праћени на: 280 nm за галну, кафену и *trans*-циметну киселину, 330 nm за *p*-кумаринску, хлорогенску, розмаринску и ферулну киселину и кверцетин и 350 nm за рутин и кверцитрин. Инјектовано је 10 μ L припремљеног узорка док је резултат изражен као mg једињења присутан у 1 капсули анализираних производа.

4.3. Одређивање *in vitro* антихипергликемичног деловања матичњака

Испитана је *in vitro* антихипергликемична активност применом тестова инхибиције α -амилазе и α -глукозидазе. Наведена испитивања се заснивају на претпоставци да екстракт инхибише активност ензима. За потребе ових анализа, од дијететског суплемента (описаног у ставки 4.1) направљен је 10% водени раствор који је по потреби разблаживан.

Тест инхибиције α -амилазе је изведен према претходно описаној спектрофотометријској методи [153]. Реакциона смеша садржала је ензим α -амилазу свињског порекла (Sigma Aldrich), плаво обојени скроб (Starch Azure) са додатим индикатором (Remazol brilliant blue; Sigma Aldrich), фосфатни пуфер рН=7 и дијететски суплемент на бази екстракта матичњака. Након периода инкубације у трајању 10 минута реакција је заустављена додатком 50% (v/v) сирћетне киселине. Након центрифугирања (20 минута, 3500 обртаја/min) измерена је апсорбанца супернатанта на 595 nm.

Тест инхибиције α -глукозидазе је изведен према описаној спектрофотометријској методи [153]. Реакциона смеша садржала је ензим α -глукозидазу пореклом из *Saccharomyces cerevisiae* (Sigma-Aldrich), коензим редуковани глутатион (Sigma-Aldrich), супстрат *p*-нитрофенил- α -D-глукопиранозид, фосфатни пуфер рН=6,8 и дијететски суплемент на бази екстракта матичњака. Након инкубације у трајању од 20 минута, на 37°C, реакција је заустављена додатком раствора Na₂CO₃ (75 g/L). Апсорбанца раствора је одређена на 400 nm.

Као позитивна контрола је у оба случаја коришћена акарбоза. Мерења апсорбанце су извршена на апарату Shimadzu UV 1800 spectrophotometer (Shimadzu Corporation, Кјото, Јапан). Резултат је изражен као проценат инхибиције при одређеној концентрацији. Сва мерења су извршена у три понављања.

Анализа је изведена на Заводу за фармацију Медицинског факултета Универзитета у Новом Саду.

4.4. *In vitro* ферментација розмаринске киселине и екстракта матичњака

Испитана је стабилност РК у процесу ферментације деловањем пробиотских микроорганизама. Као супстрат ферментације коришћена је стандардна супстанца розмаринске киселина HPLC квалитета (Sigma Aldrich) као и претходно описан дијететски суплемент на бази екстракта матичњака, док су као извор микроорганизама коришћени комерцијално доступни пробиотици приказани у Табели 4.1.

Табела 4.1. Списак микробних сојева присутних у пробиотским препаратима.

шифра	заштићени назив пробиотика	микроорганизми присутни у пробиотику	концентрација у капсули/таблети
П1	DuoBiotic®	<i>Saccharomyces boulardii</i>	5x10 ⁹ CFU
П2	Liobif®	<i>Lactobacillus rhamnosus</i>	10 ⁸ -10 ¹⁰ CFU
П3	Flonivin®	<i>Saccharomyces boulardii</i> <i>Bifidobacterium bifidum</i>	5x10 ⁹ CFU
П4	Floriotic® daily	<i>Lactobacillus acidophilus</i> CBT LA1 <i>Bifidobacterium lactis</i> CBT BL3 <i>Lactobacillus casei</i> CBT LC5	2x10 ⁹ CFU
П5	Probiotic® Ivančić i sinovi	<i>Lactobacillus helveticus</i> Rosell-52 <i>Lactobacillus rhamnosus</i> Rosell-11 <i>Bifidobacterium longum</i> Rosell-175	5x10 ⁹ CFU
П6	Biorela® daily	<i>Lactobacillus acidophilus</i> La-14 <i>Bifidobacterium lactis</i> Bi-07 <i>Lactobacillus rhamnosus</i> Lr-32	1x10 ⁹ CFU
П7	Medicobiotic®	<i>Saccharomyces boulardii</i> <i>Lactobacillus acidophilus</i> <i>Lactobacillus rhamnosus</i> GG <i>Bifidobacterium longum</i>	5x10 ⁹ CFU
П8	EsenBak®	<i>Lactobacillus acidophilus</i> LA 200B <i>Lactobacillus plantarum</i> LP 500B <i>Bifidobacterium longum</i> BLG 100B <i>Lactobacillus rhamnosus</i> LRh 300B <i>Bifidobacterium breve</i> BB 300B	1,5x10 ⁹ CFU
П9	Multilac®	<i>Lactobacillus helveticus</i> <i>Lactococcus lactis</i> <i>Bifidobacterium longum</i> <i>Bifidobacterium breve</i> <i>Lactobacillus rhamnosus</i> <i>Streptococcus thermophilus</i> <i>Bifidobacterium bifidum</i> <i>Lactobacillus casei</i> <i>Lactobacillus plantarum</i>	4,50x10 ⁹ CFU
П10	EsenBak® intens	<i>Bifidobacterium breve</i> BB-G95 <i>Bifidobacterium bifidum</i> BB-G90 <i>Bifidobacterium animalis</i> subsp. <i>Lactis</i> BL-G101 <i>Bifidobacterium longum</i> subsp. <i>Longum</i> BL-G301 <i>Bifidobacterium longum</i> subsp. <i>Infantis</i> BI-G201 <i>Lactobacillus acidophilus</i> LA-G80 <i>Lactobacillus plantarum</i> Lp-G18 <i>Lactobacillus rhamnosus</i> Lr-G14 <i>Lactobacillus paracasei</i> LpC-G110 <i>Lactobacillus reuteri</i> LR-G100	Bifidobacterium species >2,80x10 ⁹ CFU Lactobacillus species >7,20x10 ⁹ CFU
П11	Bio-Kult®	<i>Lactobacillus casei</i> PXN 37 <i>Lactobacillus plantarum</i> PXN 47 <i>Lactobacillus rhamnosus</i> PXN 23 <i>Bifidobacterium breve</i> PXN 25 <i>Bifidobacterium longum</i> PXN 30 <i>Lactobacillus acidophilus</i> PXN 35 <i>Lactococcus lactis</i> ssp. <i>Lactic</i> PXN 63 <i>Streptococcus thermophilus</i> PXN 66 <i>Bifidobacterium infantis</i> PXN 27 <i>Lactobacillus bulgaricus</i> PXN 39 <i>Lactobacillus helveticus</i> PXN 45 <i>Lactobacillus salivarius</i> PXN 57	2x10 ⁹ CFU

Легенда: CFU- енг. *colony forming units*- јединице које формирају колоније

Суплемент на бази екстракта матичњака и РК су растворени у претходно описаном фосфатном пуферу (ставка 2.2) при чему је концентрација розмаринске киселине у реакционим смешама подешена на 0,5 mg/mL. Након термостатирања на 37°C, извршено је суспендовање пробиотског препарата до концентрације 10⁸ CFU/ mL. Сваки пробиотик је постављен у дупликату, а у циљу поређења постављене су и епрувете које су садржале само суплемент на бази екстракта матичњака или РК. Потом су епрувете инкубирани у анаеробним условима, на 37°C, током 24 сата. По истеку овог периода, садржај епрувета је профилиран (0,45 µm) и анализиран применом HPLC-DAD (Agilent HP 1100 HPLC-DAD, Agilent Technologies, Валдброн, Немачка). У дијететском суплементу, поред РК, анализиран је и садржај кафене, ферулне и *p*-кумаринске киселине као претходно описаних метаболита [135].

Анализа је изведена на Заводу за фармацију Медицинског факултета Универзитета у Новом Саду.

4.5. Пацијенти и нацрт студије

У испитивању су учествовали пацијенти са HIV инфекцијом који се лече у Центру за HIV/AIDS, Клинике за инфективне болести, Клиничког центра Војводине. Током испитивања терапија антиретровирусним лековима остала је непромењена. „Кичму“ терапије чине два антиретровирусна лека из групе нуклеозидних инхибитора реверзне транскриптазе (НИРТ), а пацијенти су били подељени у три испитиване групе, а на основу лека који примају као трећи лек. На овај начин су формиране три групе:

1. испитивана група- ефавиренз (EFV+MAT),
2. испитивана група- дарунавир (DRV+MAT) и
3. испитивана група- ралтегравир (RAL+MAT).

Пацијенти испитиваних група су поред основне антиретровирусне терапије узимали претходно описани препарат матичњака (у ставки 4.1) у дневној дози од 600 mg, односно две капсуле свако вече након оброка током 12 недеља. Детаљно упутство за пацијенте испитиваних група налази се у Прилогу 1.

Формиране су и три одговарајуће контролне групе:

1. контролна група- ефавиренз (K-EFV),
2. контролна група- дарунавир (K-DRV) и
3. контролна група- ралтегравир (K-RAL)

пацијената који су користили уобичајену антиретровирусне терапију, али нису примали матичњак. Детаљно упутство за пацијенте контролних група налази се у Прилогу 2.

Ова три лека су одабрана јер представљају лекове из најчешће прописиваних комбинација Центра за HIV/AIDS Клинике за инфективне болести Клиничког центра Војводине.

Приликом одабира пацијената постављени су следећи критеријуми:

1. Критеријуми за укључивање у студију:

- мушки пол
- старији од 18 година
- недетектабилни ниво HIV-а током последњих годину дана (<50 копија HIV РНК/ mL плазме)
- без промене терапије током последњих 6 месеци и током самог истраживања
- присутан метаболички синдром, дефинисан као испуњена барем три критеријума од пет (према смерницама NСЕР:АТР III, датим у Табели 2.3)
- историја високе адхеренце
- добровољни пристанак за узимање препарата матичњака

2. Критеријуми за не укључивање у студију:

- женски пол
- *elite controllers*
- употреба неког другог биљног препарата (нпр. кантарион, бели лук, мачја канца, хмељ, валеријана, грејпфрут) као допунске терапије током истраживања или у претходних 6 месеци
- употреба лекова чија истовремена примена са лековима обрађиваним у дисертацији није безбедна или чија примена има утицаја на њихову фармакокинетику
- коинфекција са хепатитис Б или Ц вирусом

- фиброза или цироза јетре
- контраиндикације за примену матичњака:
 - алергија или други вид осетљивости на матичњак или розмаринску киселину
 - смањена функција штитасте жлезде
 - повишен интраокуларни притисак
 - употреба анксиолитика или седатива

3. Критеријуми за искључивање из студије:

- престанак узимања матичњака или узимање на другачији начин од прописаног (само за пацијенте испитиваних група)
- наступање стања или обољења из критеријума за не укључивање

4. Критеријуми за пребацивање пацијента из испитиване у контролну групу:

- наступање контраиндикација за примену матичњака

Сагласност о етичности испитивања добијена је од Етичког одбора Клиничког центра Војводине (број одобрења 00-15/829 од 6. октобра 2017. године) и Етичке комисије Медицинског факултета Универзитета у Новом Саду (број одобрења 01-39/217/1 од 23. новембра 2017. године).

4.6. Одређивање концентрације розмаринске киселине у крви пацијената

Концентрација РК мерена је у крви пацијената који су били у испитиваним групама на крају периода од 12 недеља. Претпостављено је да је концентрација РК на почетку испитиваног периода нула, с обзиром да пацијенти нису узимали матичњак или друге биљке које садрже ово једињење.

Крв је извађена пред крај периода дозирања од 24 сата, уз прецизно бележење времена од последње узете дозе матичњака. Крв је узоркована у епрувете које су као антикоагуланс

садржале цитрат. Узорак је центрифугиран (15 минута, 3500 обртаја/min) и добијена плазма је одвојена и чувана до анализе на -20°C .

Припрема узорка извршена је према претходно описаној методи уз модификације [117]. Извршена је хидролиза конјугата РК помоћу ензима β -глукуронидазе пореклом из виноградарског пужа (лат. *Helix pomatia* L., Helicidae) (Sigma Aldrich). Поред основне активности раскидања конјугата са глукуронском киселином, овај ензим показује и споредну активност сулфатазе, те раскида и сулфо-конјугат РК. Претходно описана плазма је помешана са раствором ензима у односу 1:1. Потом је извршена инкубација на 37°C , током 45 минута. Додатком сирћетне киселине у метанолу, реакција је заустављена уз таложење протеина плазме. Целокупна реакциона запремина је центрифугирана (10 минута, 3500 обртаја/min). Супернатант је профилиран (0,45 μm) и коришћен за даљу анализу.

Анализа је извршена према претходно описаној методи уз модификације [154], применом HPLC-DAD (Agilent HP 1100 HPLC-DAD, Agilent Technologies, Валдброн, Немачка). Раздвајање компоненти је извршено на колони Nucleosil C18 (5 μm x 4,6 mm x 250 mm), на собној температури (25°C). Мобилну фазу А представљао је метанол, док је мобилна фаза В био 0,1% (m/m) раствор фосфорне киселине у води; примењена је градијентна елуција по следећем програму: 0-5 min, 55% В; 5-10 min, 20% В. Проток мобилне фазе износио је 1 mL/min, док је инјектовано 50 μL узорка. Хроматограми узорака су снимани на 330 nm. Резултат је изражен као mg/L плазме.

Анализа је изведена на Заводу за фармацију Медицинског факултета Универзитета у Новом Саду.

4.7. Одређивање концентрације антиретровирусних лекова у крви пацијената

Концентрација ефавиренза, дарунавира и ралтегравира мерена је у крви пацијената испитиваних и контролних група, на почетку и на крају периода од 12 недеља.

Крв је извађена пред крај периода дозирања (од 24 или 12 сати, у зависности од тога да ли се лек пије једном или два пута дневно), уз прецизно бележење времена од последње узете дозе лека. Крв је узоркована у епрувете које су као антикоагуланс садржале хепарин. Узорак

је центрифугиран (15 минута, 3500 обртаја/min) и добијена плазма је одвојена и чувана до анализе на -80°C .

Припрема и анализа узорка извршена је према претходно описаној методи, уз модификације [155], применом HPLC. Сви узорци су инактивисани загревањем на 78°C , 30 секунди. Узорак плазме је помешан са 1 mL смеше ацетонитрила и метанола (1:1, v/v), а затим је узорку додат и интерни стандард хиноксалин (Sigma Aldrich). Узорак је потом центрифугиран (60 минута, 5000 обртаја/min; Centrifuger BLT, JP Selecta). Сви узорци су потом филтрирани (најлон филтер мембране, са величином пора 0,2 μm) и коришћени за даљу анализу.

Раздвајање компоненти је извршено на колони Zorbax Eclipse C18 (5 μm x 4,6 mm x 150 mm), термостатираној на 15°C . Мобилну фазу А представљао је фосфатни пуфер (KH_2PO_4), док је мобилна фаза Б био ацетонитрил; извршена је градијентна елуција по следећој шеми: 0 min, 50 % А; 32 min, 47% А; 32 min, 75 % А. Проток мобилне фазе износио је 1,2 mL/min. Максимуми апсорпције су снимани на: 210 nm за хиноксалин, 240 nm за ралтегравир и ефавиренз и 260 nm за дарунавир. Резултат је изражен као минимална концентрација лека у крви непосредно пред крај периода дозирања- C_{trough} , у ng/mL плазме.

Анализа је извршена применом HPLC-DAD (Agilent HP 1260 Infinity HPLC-DAD, Agilent Technologies, Валдброн, Немачка).

Анализа је изведена у Лабораторији за фармакокинетику Института за фармакологију, клиничку фармакологију и токсикологију Медицинског факултета Универзитета у Београду.

4.8. Одређивање броја копија HIV РНК

Вредности виремије мерене су у крви пацијената испитиваних и контролних група на почетку и на крају периода од 12 недеља. Анализе су извшене у оквиру редовних контроли пацијената.

Крв је узоркована у епрувете које су као антикоагуланс садржале етилендиаминтетрасирћетну киселину (енг. *ethylenediaminetetraacetic acid* – EDTA). Узорци су анализирани непосредно након узорковања.

Број копија вируса у крви пацијената је одређен PCR методом (енг. *polymerase chain reaction*, реакција ланчаног умножавања). Метода је заснована на *in vitro* умножавању генетског материјала и детекције истог након обележавања флуоресцентном пробом, а интензитет је пропорционалан количини HIV-1 РНК у оригиналном узорку. Резултат је изражен као број копија HIV-1 РНК у mL крви. Анализа је извршена *real time* PCR комерцијалним тестовима на апарату m2000rt Abbott.

Анализа је изведена у Центру за лабораторијску медицину Клиничког центра Војводине.

4.9. Одређивање хематолошких параметара у крви пацијената

Вредности хематолошких параметара мерене су у крви пацијената испитиваних и контролних група на почетку и на крају периода од 12 недеља. Анализе су извршене у оквиру редовних контрола пацијената.

Крв је извађена наште. Крв је узоркована у епрувете које су као антикоагуланс садржале EDTA. Узорци су анализирани непосредно након узорковања.

Елементи крви анализирани су методом проточне (енг. *flow*) цитометрије. Метода је заснована на раздвајању ћелијских елемената спрема физичких карактеристика у проточној течности. Резултати су изражени у $10^{12}/L$ крви за еритроците (енг. *erythrocytes* – Erc), $10^9/L$ крви за леукоците (енг. *leukocytes* – Leu) и тромбоците (енг. *thrombocytes* – Trc), док је концентрација хемоглобина (енг. *hemoglobine* – Hgb) изражена у g/L. Референтне вредности (за мушкарце) износе: $4,2-6 \cdot 10^{12}/L$ за Erc, $4-10 \cdot 10^9/L$ за Leu, $140-400 \cdot 10^9/L$ за Trc и 130-160 g/L. Анализа је извршена употребом комерцијалних сетова на хематолошком аутоматском анализатору CELL-DYN Sapphire (Abbott Laboratories, Сједињене Америчке Државе).

Анализа је изведена у Центру за лабораторијску медицину Клиничког центра Војводине.

4.10. Одређивање имунолошких параметара у крви пацијената

Ниво CD4+ Т-лимфоцита мерен је у крви пацијената испитиваних и контролних група на почетку и на крају периода од 12 недеља. Анализе су извршене у оквиру редовних контрола пацијената.

У крви пацијената одређивани су број CD4+ Т-лимфоцита употребом *flow* цитометрије. Резултати су изражени као број ових лимфоцита у mL крви. Анализа је извршена употребом комерцијалних реагенса на апарату BD FACSCount (BD Biosciences, Сједињене Америчке Државе).

Анализа је изведена у Центру за HIV-AIDS Клинике за инфективне болести Клиничког центра Војводине.

4.11. Одређивање биохемијских параметара у крви пацијената

Вредности биохемијских параметара мерене су у крви пацијената испитиваних и контролних група на почетку и на крају периода од 12 недеља. Анализе су извршене у оквиру редовних контрола пацијената.

У оквиру метаболизма угљених хидрата извршена су мерења нивоа глукозе (шећер у крви-ШУК) и инсулина у крви. Концентрација глукозе је одређивана комерцијалним сетовима за ензимски тест (хексокиназа), на апарату ADVIA® 1800 Chemistry (Siemens Healthcare Diagnostics, Немачка). Концентрација инсулина је одређивана комерцијалним сетовима за имунометријску електрохемилуминисценту методу, на апарату Elecsys 2010 (COBAS Roche Diagnostics, Сједињене Америчке Државе). Резултати гликемије су изражени у mmol/L, а инсулинемије у $\mu\text{IU/mL}$. Референтне вредности износе: 3,33-5,55 mmol/L за гликемију наше и 1-20 $\mu\text{IU/mL}$ за инсулинемију.

У оквиру метаболизма липида извршена су мерења нивоа укупног HOL-а, LDL-а, HDL-а и TG-а у крви. Концентрација TG, укупног HOL-а и HDL-а одређена је комерцијалним сетовима за ензимске тестове (ензими холестерол естераза за укупни HOL и HDL, липаза за за триглицериде). Концентрација LDL-а добијена рачунским путем ($\text{LDL} = \text{HOL} - (\text{TG}/5 + \text{HDL})$). Резултати су изражени у mmol/L. Референтне вредности (за мушкарце) износе: до

5,2 mmol/L за HOL, до 3,5 mmol/L за LDL-a, изнад 1,3 mmol/L за HDL-a и до 1,7 mmol/L за TG. Сва мерења су извршена на апарату ARCHITECT ci4100 (Abbott Laboratories, Сједињене Америчке Државе).

У оквиру процене јетрене функције извршена су мерења активности јетрених ензима AST, ALT и ALP. Активност ензима одређивана је спектрофотометријским методама уз употребу комерцијалних китова. Резултати су изражени у U/L. Референтне вредности износе: 5-37 U/L за AST, 1-55 U/L за ALT и ALP за 30-115 U/L. Сва мерења су извршена на апарату ADVIA® 1800 Chemistry (Siemens Healthcare Diagnostics, Немачка).

Анализа је изведена у Центру за лабораторијску медицину Клиничког центра Војводине.

4.12. Одређивање показатеља оксидативног стреса и антиоксидативне заштите

Одређивање интензитета липидне пероксидације и активност антиоксидативних ензима мерена је у крви пацијената испитиваних и контролних група на почетку и на крају периода од 12 недеља.

Анализа је изведена на Заводу за фармацију Медицинског факултета Универзитета у Новом Саду.

4.12.1 Одређивање интензитета липидне пероксидације

4.12.1.2 Одређивање интензитета липидне пероксидације у плазми

Крв пацијената је узоркована у епрувете које су као антикоагуланс садржале EDTA. Узорак је центрифугиран (15 минута, 3500 обртаја/min) и добијена плазма је одвојена и чувана до анализе на -20°C.

Интензитет липидне пероксидације одређен је преко концентрације супстанци које реагују са тиобарбитурном киселином (енг. *thiobarbituric acid reactive substances* – TBARS) према претходно описаној методи [156]. Метода се заснива на реакцији производа липидне пероксидације (малондиалдехида, енг. *malondialdehyde* – MDA) са тиобарбитурном киселином у киселој средини, при чему настаје ружичасто обојени комплекс. Реакциона смеша садржала је 0,5 mL плазме и 1,5 mL смеше трихлорсирћетне, тиобарбитурне и

концентроване хлороводоничне киселине. Након инкубације узорака (90°C, 15 минута), епрувете су охлађене на леду, а потом центрифугиране (3500 обртаја/min, 20 минута). Апсорбанца супернатанта измерена је на 535 nm (Shimadzu UV 1800 spectrophotometer, Shimadzu Corporation, Кјото, Јапан). Концентрација производа липидне пероксидације изражена је у nmol MDA/L.

4.12.1.2 Одређивање интензитета липидне пероксидације у хемолизату

Крв пацијената је узоркована у епрувете које су као антикоагуланс садржале EDTA. Узорак је центрифугиран (15 минута, 3500 обртаја/min), плазма је одвојена и одбачена, а добијени талог крвних елемената је испран три пута са физиолошким раствором. Након финалног испирања, додата је хладна дестилована воде до укупне запремине од 4 mL. Добијени хемолизат је чуван до анализе на -20°C.

Интензитет липидне пероксидације одређен је преко концентрације TBARS према претходно описаној методи, уз модификације [157], применом HPLC-DAD (Agilent HP 1100 HPLC-DAD, Agilent Technologies, Валдброн, Немачка). Реакциона смеша је садржала 0,5 mL хемолизата и 1,5 mL тиобарбитурне киселине. Након загревања на воденом купатилу (90°C, 15 минута), епрувете су охлађене на леду, а потом центрифугиране (3500 обртаја/min, 20 минута). Додатком раствора 1M NaOH, реакција је заустављена уз таложење протеина плазме. Целокупна реакциона запремина је центрифугирана (10 минута, 3500 обртаја/min). Супернатант је профильтриран (0,45 μ m) и коришћен за даљу анализу.

Раздвајање компоненти је извршено на колони Zorbax RP C18 (5 μ m x 4.6 mm x 150 mm), на собној температури (25°C), при чему је инјектовано 3 μ L супернатанта. Мобилну фазу А представљао је 50 mM фосфатни пуфер (pH=6,8), док је мобилна фаза В био метанол; примењена је изократска елуција по следећем програму: А:В = 40:60. Проток мобилне фазе износио је 1 mL/min, док је елуент детектован применом флуоресцентног детектора (таласна дужина ексцитације 527 nm и емисије 551 nm); секундарна детекција је извршена применом диодног детектора и таласне дужине од 532 nm. Резултат је изражен као nmol/L хемолизата.

4.12.2 Одређивање активности антиоксидативних ензима

Испитивање је извршено у узорку хемолизата припремљеног на начин описан у ставки 4.12.1.2.

4.12.2.1 Одређивање активности каталазе

Активност каталазе (енг. *catalase* – CAT) одређивана је помоћу H_2O_2 , на основу претходно описане спектрофотометријске методе [156] применом Agilent 8453 UV-visible spectrophotometer (Agilent Technologies, Валдброн, Немачка). Метода се заснива на разградњи H_2O_2 деловањем CAT, што се прати смањењем интензитета апсорпције H_2O_2 . Реакциона смеша је садржала фосфатни пуфер 0,05 M, pH=6,8, додат H_2O_2 и 20 μ L разблаженог узорка хемолизата. Мерена је промена апсорбанце у јединици времена, током 3 минута, на 240 nm. Активност CAT изражена је у јединицама по граму хемоглобина (U/ g Hgb). Мерења су извршена у два понављања.

4.12.2.2 Одређивање активности глутатион S-трансферазе

Активност глутатион-S-трансферазе (енг. *glutathione S-transferase* – GST) одређивана је помоћу 1-хлородинитробензена (енг. *1-chlorodinitrobenzene* – CDNB), по претходно описаној спектрофотометријској методи [156], применом Agilent 8453 UV-visible spectrophotometer, Biochem Analysis UV/Vis SW (Agilent Technologies, Валдброн, Немачка). Метода се заснива на реакцији CDNB са -SH групом глутатиона деловањем GST, што се прати повећањем интензитета апсорпције насталог конјугата CDNB-глутатион. Реакциона смеша је садржала фосфатни пуфер 0,5M, pH=6,8, CDNB (Alfa Aesar), глутатион и 10 μ L хемолизата. Мерена је промена апсорбанце у јединици времена, током 3 минута, на 340 nm. Активност GST изражена је у јединицама у минути по граму хемоглобина (nmol конјугата/ min/ g Hgb).

4.13. Антропометрија

Пацијентима испитиваних и контролних група, на почетку и на крају испитиваног периода од 12 недеља, измерене су телесна маса, висина и обим струка. Телесна маса мерена је у

лакој одећи, у стојећем ставу, на ваги за мерење телесне масе. Телесна висина је мерена без обуће пацијената, у стојећем ставу, помоћу антропометра по Мартину. Резултат мерења масе је изражен у килограмима, а висина у сантиметрима. На основу масе и висине израчунат је индекс телесне масе (енг. *body mass index* – BMI) као количник масе и квадрата висине [158]. Пацијентима је измерен и обим струка, у стојећем ставу, на средини између најнижег дела ребарног лука и највишег дела бедрене кости, помоћу центиметарске траке, а резултат је изражен у сантиметрима. Крвни притисак је мерен након мировања од 15 минута, у седећем ставу, на левој руци, помоћу сфигмоманометра, а резултат је изражен у милиметрима живиног стуба (mmHg).

Анализа је изведена у Центру за HIV-AIDS Клинике за инфективне болести Клиничког центра Војводине.

4.14. Субјективна процена пацијената

Пацијенти испитиваних група су на крају периода од 12 недеља анкетирани са циљем испитивања општих утисака о употреби матичњака. Пацијенти су сами попуњавали кратки упитник који је дат у Прилогу 3.

Испитивање је изведено у Центру за HIV-AIDS Клинике за инфективне болести Клиничког центра Војводине.

4.15. Статистичка обрада резултата

Резултати анализе хемијског састава и *in vitro* антихипергликемичног деловања (описаних у ставкама 4.2. и 4.3.) приказани су дескриптивном статистиком, као средња вредност уз стандардну девијацију.

Резултати *in vitro* ферментације описане у ставки 4.4, представљене су кутијастим (енг. *box plot*) графицима, при чему „кутије“ означавају интерквартилни размак, а „бркови“ растојање до екстремне вредности (енг. *outlier*) вредности. На наведеним графицима су представљене средње вредности и медијане мерене величине.

За концентрације РК у крви пацијената и време протекло од узимања матичњака, одређен је Пирсонов коефицијент корелације.

Параметри који су одређивани код пацијената (описани у ставкама 4.7, 4.9-4.13, као и године живота пацијената), приказани су помоћу дескриптивне статистике, уз одређивање средње вредности (\bar{x}) уз стандардну девијацију (енг. *standard deviation* – SD), као и приказ минимума (енг. *minimum* – Min), максимума (енг. *maximum* – Max) и медијане. За сваки параметар тестирана је нормалност расподеле помоћу Шапиро-Вилк теста. Одговарајућим статистичким тестовима извршено је поређење параметара пре и после периода испитивања између одговарајуће испитиване и контролне групе и међусобно поређење испитиваних и контролних група - од параметарских тестова коришћени су Т-тест зависних узорака, Т-тест независних узорака и анализа варијансе, а од непараметарских Вилкоксонов тест парова, Мен-Витни У-тест и Краскал-Волис тест.

Сви тестови су урађени на нивоу значајности 95% (ниво грешке 5%).

За обраду података коришћени су програми Microsoft Office Excel и IBM SPSS Statistics, верзија 20. Резултати су приказани табеларно и графички.

5. РЕЗУЛТАТИ

5.1. Хемијска карактеризација активних принципа препарата матичњака

Резултати прелиминарне хемијске анализе приказани су у Табели 5.1.

Табела 5.1. Садржај укупних фенолних и флавоноидних једињења у дијететском суплементу на бази екстракта матичњака.

	садржај	
укупна фенолна једињења	52,28±5,98	mg GAE / 1 капсули
укупни флавоноиди	2,55±0,47	mg QE / 1 капсули

Легенда: GAE- еквиваленти галне киселине; QE- еквиваленти кверцетина
вредности садржаја су представљене као средња вредност±стандардна девијација

На основу прелиминарних анализа детектован је већи садржај фенола, те се коришћени препарат на бази екстракта матичњака може се окарактерисати као добар извор фенолних једињења.

Резултати детаљне хемијске анализе приказани су у Табели 5.2.

Табела 5.2. Садржај одабраних фенолних и флавоноидних једињења у дијететском суплементу на бази екстракта матичњака.

назив једињења	садржај	
гална киселина	0,02±0,01	
<i>trans</i> -циметна киселина	<ЛД	
<i>p</i> -кумаринска киселина	0,11±0,02	
кафена киселина	0,31±0,03	
ферулна киселина	0,30±0,04	mg /
хлорогенска киселина	0,55±0,06	1 капсули
розмаринска киселина	23,48±3,17	
кверцетин	0,11±0,01	
кверцитрин	<ЛД	
рутин	<ЛД	

Легенда: ЛД- лимит детекције
вредности садржаја су представљене као средња вредност±стандардна девијација

Очекивано, количински најзаступљенија компонента је РК, чији је садржај усаклашен са садржајем декларисаним од стране произвођача препарата. После РК, најзаступљеније су хлорогенска, кафена и ферулна киселина.

Хроматограм анализираниог дијететског суплемента на бази екстракта матичњака дат је у Прилогу 4.

5.2. Одређивање *in vitro* антихипергликемичног деловања матичњака

Резултати тестова инхибиције ензима α -амилазе и α -глукозидазе приказани су у Табели 5.3.

Табела 5.3. Резултати *in vitro* антихипергликемичне активности дијететског суплемента на бази екстракта матичњака.

тестирани ензим	тестиране концентрације			% инхибиције ензима
	(µg/mL)			
	80	160	240	
α -амилаза	29,37±3,69	-	35,66±2,24	
α -глукозидаза	84,03±8,99	86,23±4,58	-	

- није тестирано

проценти инхибиције су представљени као средња вредност±стандардна девијација

На основу процента инхибиције при истој концентрацији може се закључити да је дијететски суплемент на бази екстракта матичњака бољи инхибитор α -глукозидазе. Добијене вредности IC_{50} акарбозе за оба ензима ($4,43\pm 0,23$ µg/mL за α -амилазу и $40,62\pm 0,93$ за α -глукозидазу) при идентичним експериментални условима сугеришу снажну анти- α -глукозидазну активност, односно умерену анти- α -амилазну активност.

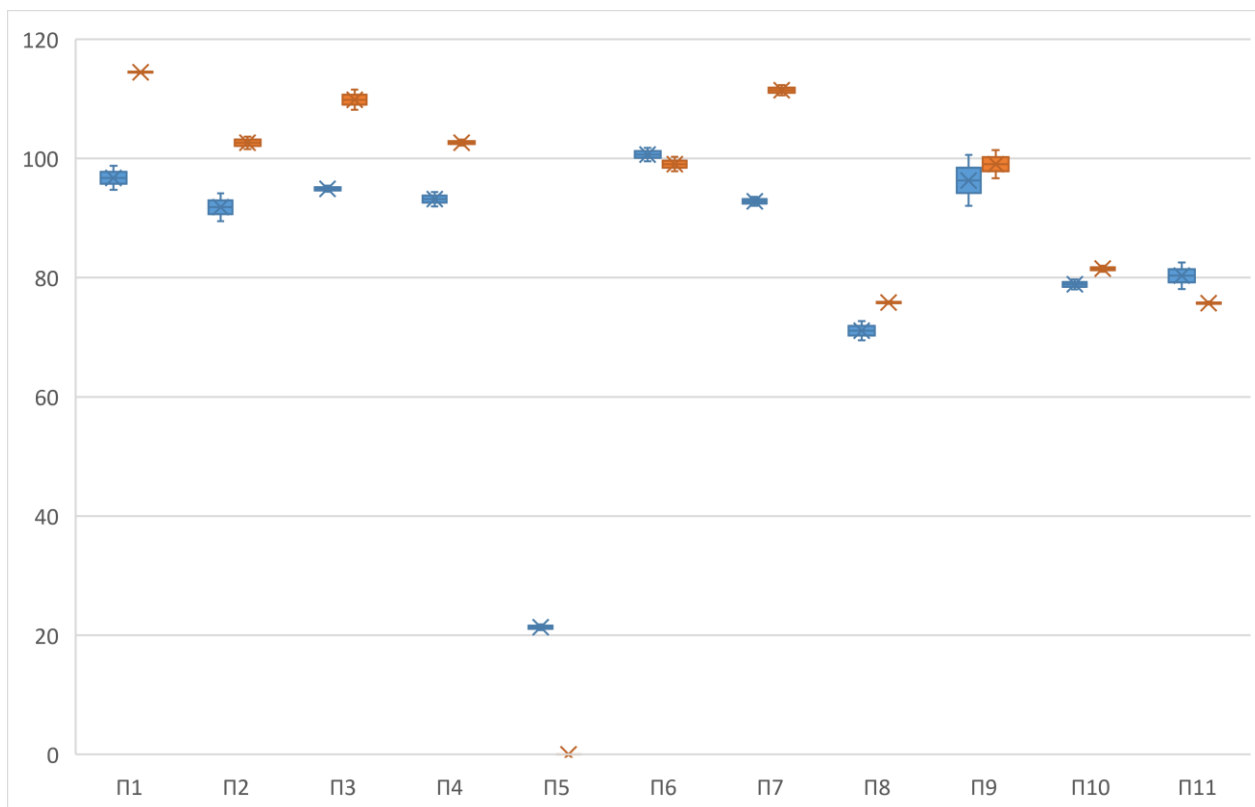
5.3. *In vitro* ферментација розмаринске киселине и екстракта матичњака

Испитано је поређење садржаја РК пре и после ферментације од стране пробиотских бактерија. У случајевима где је као извор РК коришћен дијететски суплемент на бази

екстракта матичњака упоређен је и садржај кафене, ферулне и *p*-кумаринске киселине (метаболита РК) пре и после ферментације.

Пример хроматограма анализе препарата на бази екстракта матичњака након ферментације од стране пробиотских микроорганизама дат је у Прилогу 5.

Резултати приказани на Сликама 5.1, 5.2, 5.3 и 5.4 изражени су као проценат детектованог једињења у односу на почетну количину истог једињења пре процеса ферментације.



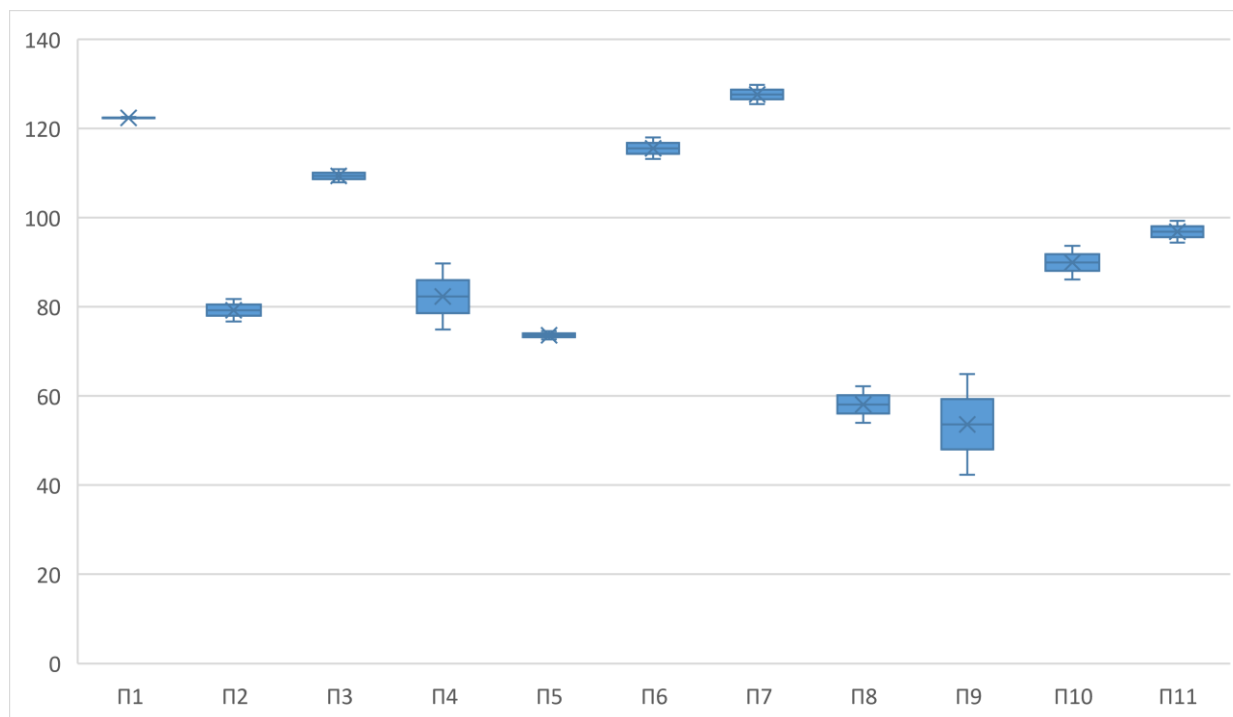
Слика 5.1. *Box plot* графици промене садржаја розмаринске киселине након ферментације пробиотским сојевима микроорганизама.

(плаво- розмаринска киселина у дијететском суплементу на бази екстракта матичњака, црвено- хемијски чиста супстанца)

У случају коришћеног раствора чисте супстанце РК (црвено обележено на Слици 5.1), до мањих промене концентрације дошло је након процеса ферментације употребом пробиотика П2, П4, П6 и П9. Употребом појединих пробиотика детектовано је повећање концентрације РК (П1, П3 и П7). Насупрот овоме, код преосталих пробиотика је дошло до разградње РК. Редукција количине РК износила је од око 20% за пробиотик П10, до потпуних 100% за П5. Код П8 и П11, снижење концентрације РК је готово идентично (око

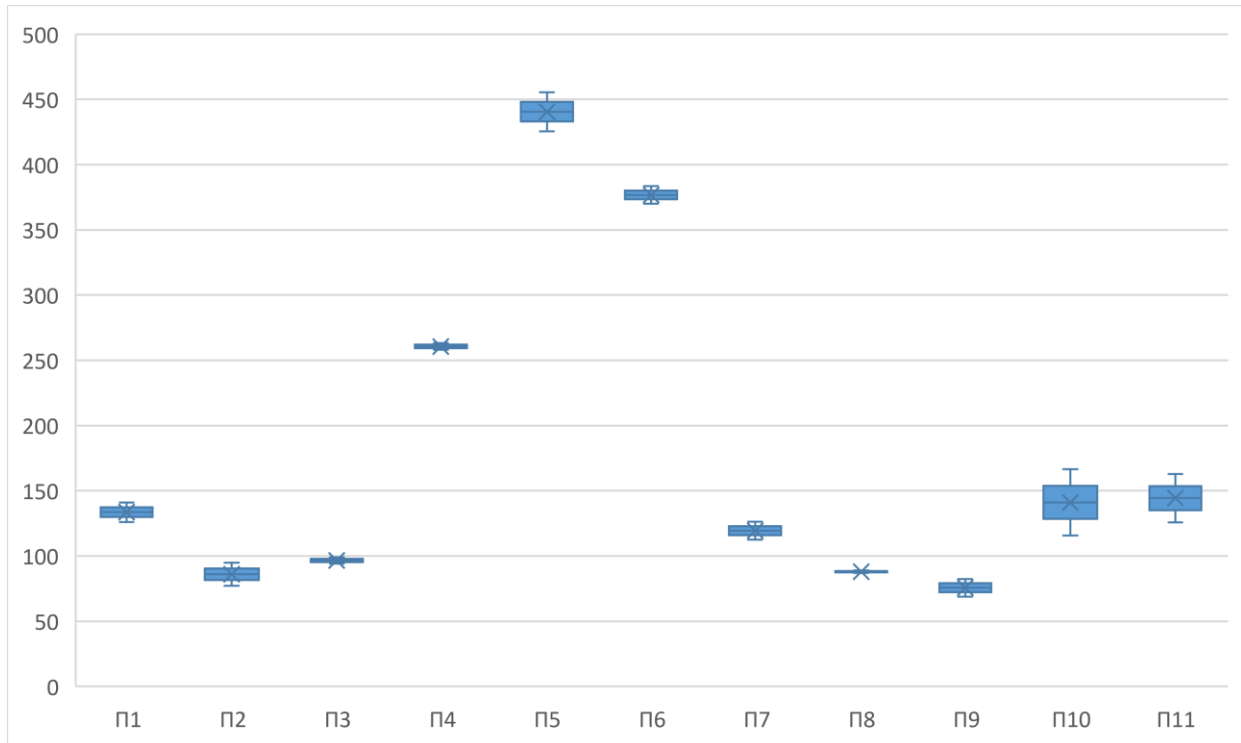
25%) и може се претпоставити да су за добијене резултате одговорне исте бактеријске врсте (све врсте садржане у П8 налазе се и у пробиотику П11). Упоредивањем састава П5 и П8, нађено је да су врсте *Lactobacillus rhamnosus* и *Bifidobacterium longum* присутне у оба пробиотика. Међутим, с обзиром да је у пробиотику П5 дошло до потпуне разградње РК, може се претпоставити да је овоме допринео сој *Lactobacillus helveticus* (присутан у П5, али не у П8).

Анализом концентрације РК у препарату на бази екстракта матичњака пре и после ферментације, испитана је стабилност овог једињења у комплексном матриксу (плаво обележено на Слици 5.1). До незнатног или малог снижења дошло је у узорцима П1-П4, П6, П7 и П9. Редукција РК у обиму од око 20% је забележена за пробиотике П10 и П11, око 30% за П8 и чак око 80% у случају коришћења за П5. Анализом бактеријских сојева који улазе у састав ових пробиотика опет се потенцира значај *L. helveticus*, што је у складу са резултатима ферментације на чистој РК. Поређењем процента разградње РК као чисте супстанце и као једињења присутног у суплементу на бази екстракта матичњака, при употреби истог пробиотика као извора микроорганизама, долази се до закључка да се у већини случајева више РК разгради у препарату на бази екстракта матичњака, односно, да је чиста РК стабилнија у процесу микробне ферментације.

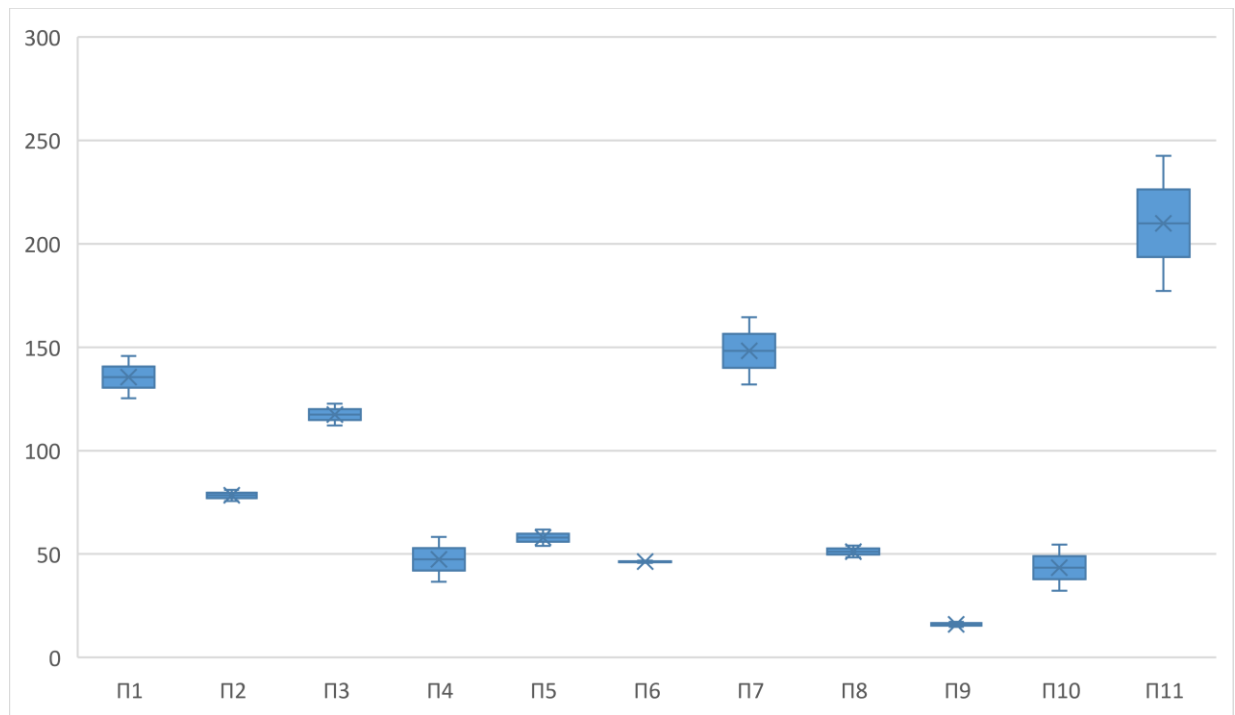


Слика 5.2. *Box plot* графици промене садржаја кафеине киселине након ферментације пробиотским сојевима микроорганизама.

Кафена киселина представља један од основних метаболита розмаринске киселине с обзиром да представља једну од две фенолне киселине које улазе у састав овог једињења. На Слици 5.2, показане су промене количине овог једињења које показују и повећање и смањење количине у зависности од коришћеног пробиотика. Смањење концентрације најизраженије је регистровано у случајевима пробиотика П2, П5 и П9. Поређењем састава може се приметити да је *Lactobacillus rhamnosus* заједнички бактеријски сој у сва три препарата, а већи проценат смањења кафеине киселине уз пораст броја микробних сојева у препарату сугерише да у овом процесу поред наведеног лактобацила учествују и други сојеви.



Слика 5.3. *Box plot* графици промене садржаја ферулне киселине након ферментације пробиотским сојевима микроорганизама.

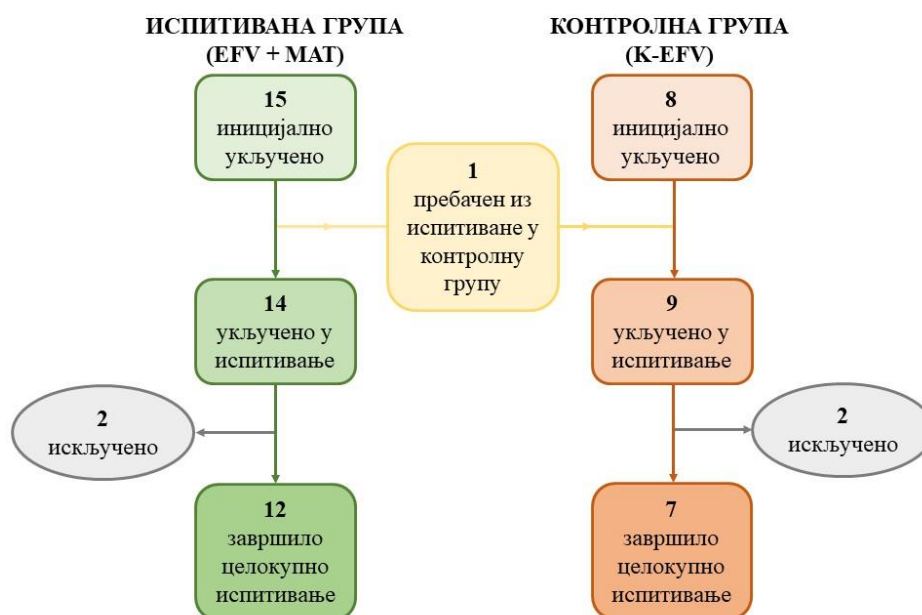


Слика 5.4. *Box plot* графици промене садржаја *p*-кумаринске киселине након ферментације пробиотским сојевима микроорганизама.

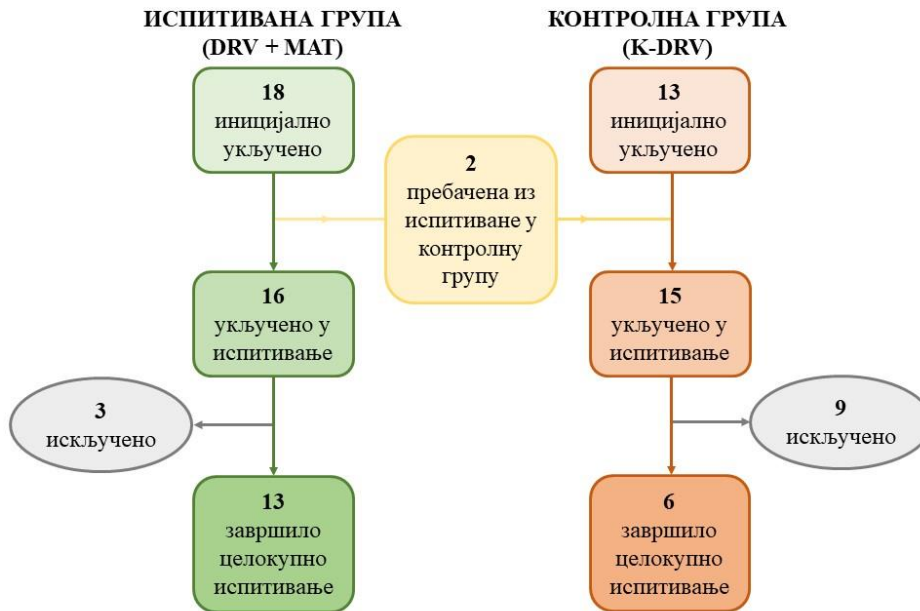
Ферулна и *p*-кумаринска киселина такође представљају значајне метаболите РК који настају метоксилацијом, односно дехидроксилацијом сегмента кафене киселине. На основу датих Слика 5.3 и 5.4 и промене процента РК у датом супелменту на бази екстракта матичњака, не може се извући јединствен закључак о зависности промене концентрације ових киселина. Могуће објашњење лежи у чињеници да поменути једињења представљају само један од потенцијалних метаболита кафене киселине, чији метаболизам зависи од коришћеног микроорганизама.

5.4. Пацијенти

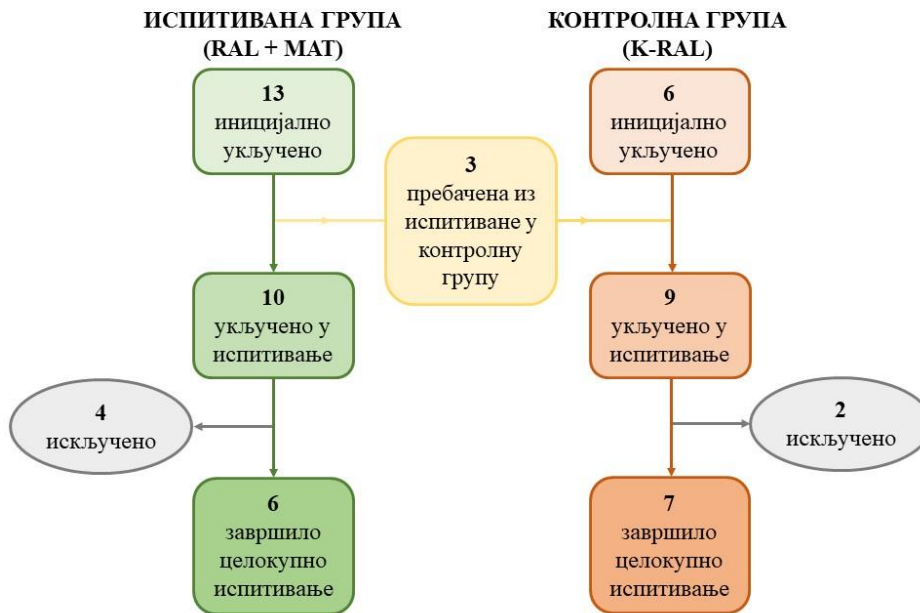
На основу претходно постављених критеријума за укључивање, не укључивање и искључивање, извршена је селекција пацијената који се у својој терапији примају један од испитиваних лекова. Шема учешћа пацијената у испитивању је приказана на Сликама 5.5, 5.6 и 5.7. Испитивање је трајало од децембра 2018. године до фебруара 2021.



Слика 5.5. Шема селекције пацијената који у оквиру терапије примају ефавиренз.



Слика 5.6. Шема селекције пацијената који у оквиру терапије примају дарунавир.



Слика 5.7. Шема селекције пацијената који у оквиру терапије примају ралтегравир.

Сви пацијенти су били мушког пола. У Табели 5.4 дати су детаљи о старости пацијената.

Табела 5.4. Године живота пацијената.

група	параметар	\bar{x}	SD	Min	Max	медијана	<i>p</i> вредност
MAT+EFV	године живота	49,25	5,64	38	61	48	0,312
K-EFV		49,86	10,68	33	60	48	0,415
MAT+DRV		48,69	8,04	30	65	49	0,255
K-DRV		39,67	10,65	28	59	37	0,313
MAT+RAL		42,50	11,35	35	65	39	0,006
K-RAL		57	11,56	43	71	59	0,254

Легенда: \bar{x} - средња вредност; SD- стандардна девијација; Min- минимум; Max- максимум; MAT+EFV- испитивана група ефавиренза; K-EFV- контролна група ефавиренза; MAT+DRV- испитивана група дарунавира; K-DRV- контролна група дарунавира; MAT+RAL- испитивана група ралтегравира; K-RAL- контролна група ралтегравира

Године живота прате нормалну расподелу код свих група изузев MAT+RAL.

Извршено је поређење година живота између испитиване и контролне групе, и приказ резултата је дат у Табели 5.5.

Табела 5.5. Тестирање статистичке значајности разлике година живота између испитиване и контролне групе.

параметар	тест група 1 ($\bar{x} \pm SD$)	тест група 2 ($\bar{x} \pm SD$)	<i>p</i> вредност
године живота	MAT+EFV	K-EFV	0,598 ^a
	49,25±5,64	49,86±10,68	
	MAT+DRV	K-DRV	0,055 ^a
	48,69±8,04	39,67±10,65	
MAT+RAL	K-RAL	0,014^b	
	42,50±11,35	57±11,56	

^a Т-тест независних узорака

^b Мен-Витни У-тест

Легенда: \bar{x} - средња вредност; SD- стандардна девијација; MAT+EFV- испитивана група ефавиренза; K-EFV- контролна група ефавиренза; MAT+DRV- испитивана група дарунавира; K-DRV- контролна група дарунавира; MAT+RAL- испитивана група ралтегравира; K-RAL- контролна група ралтегравира

Пронађена је статистички значајна разлика између година живота пацијената испитиване и контролне групе ралтегравира.

Извршено је међусобно поређење свих испитиваних и свих контролних група. Резултати су приказани у Табели 5.6.

Табела 5.6. Тестирање статистичке значајности међусобне разлике година живота између испитиваних група и између контролних група.

параметар	тест група 1 ($\bar{x} \pm SD$)	тест група 2 ($\bar{x} \pm SD$)	тест група 3 ($\bar{x} \pm SD$)	<i>p</i> вредност
године живота	MAT+EFV	MAT+DRV	MAT+RAL	
	49,25±5,64	48,69±8,04	42,50±11,35	0,107 ^a
	K-EFV	K-DRV	K-RAL	
	49,86±10,68	39,67±10,65	57±11,56	0,035^b

^a анализа варијансе

^b Краскал-Волис тест

Легенда: \bar{x} - средња вредност; SD- стандардна девијација;

MAT+EFV- испитивана група ефавиренза; K-EFV- контролна група ефавиренза; MAT+DRV- испитивана група дарунавира; K-DRV- контролна група дарунавира; MAT+RAL- испитивана група ралтегравира; K-RAL- контролна група ралтегравира

Пронађена је статистички значајна разлика између година живота контролних група.

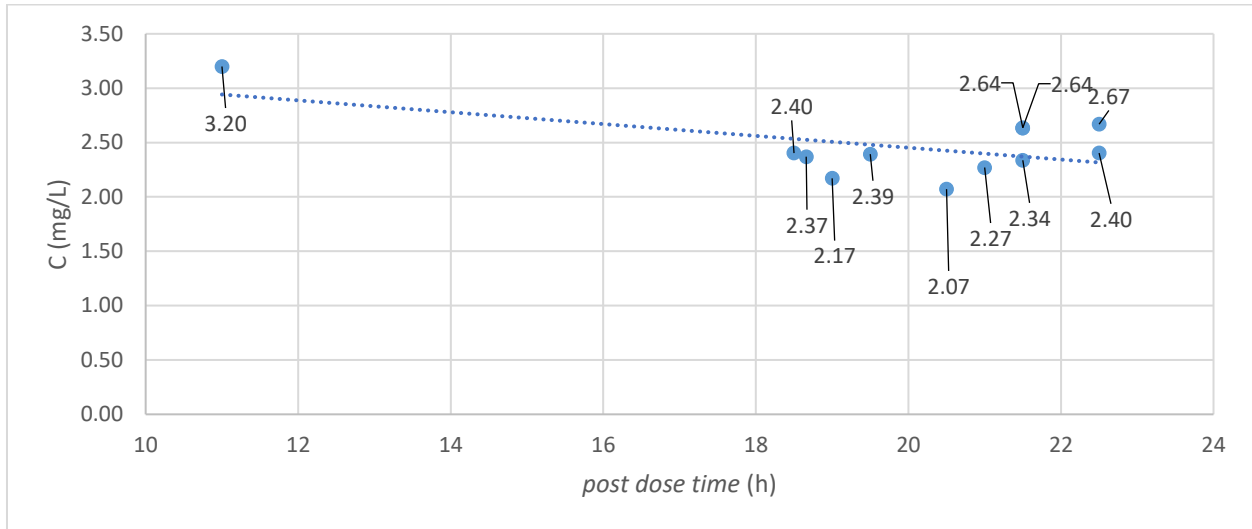
5.5. Одређивање концентрације розмаринске киселине у крви пацијената

На крају периода испитивања, пацијентима је извађена крв у циљу одређивања концентрације розмаринске киселине. Обзиром на претходно показани састав примењеног препарата матичњака, уз највећу количину РК, претпостављено је да је да ово једињење уједно и главни активни принцип, али и маркер употребе матичњака у плазми. Пример хроматограма анализираних узорка плазме дат је у Прилогу 6.

На основу претходно познатих података о метаболизму РК претпостављено је да ће након дужег временског периода (12 недеља) у крви доминирати конјуговани облици РК. Иницијална анализа узорака плазме пацијената, без претходног третмана ензимом (β -глукуронидаза са споредном активношћу сулфатазе), није успела да детектује РК. Добијени

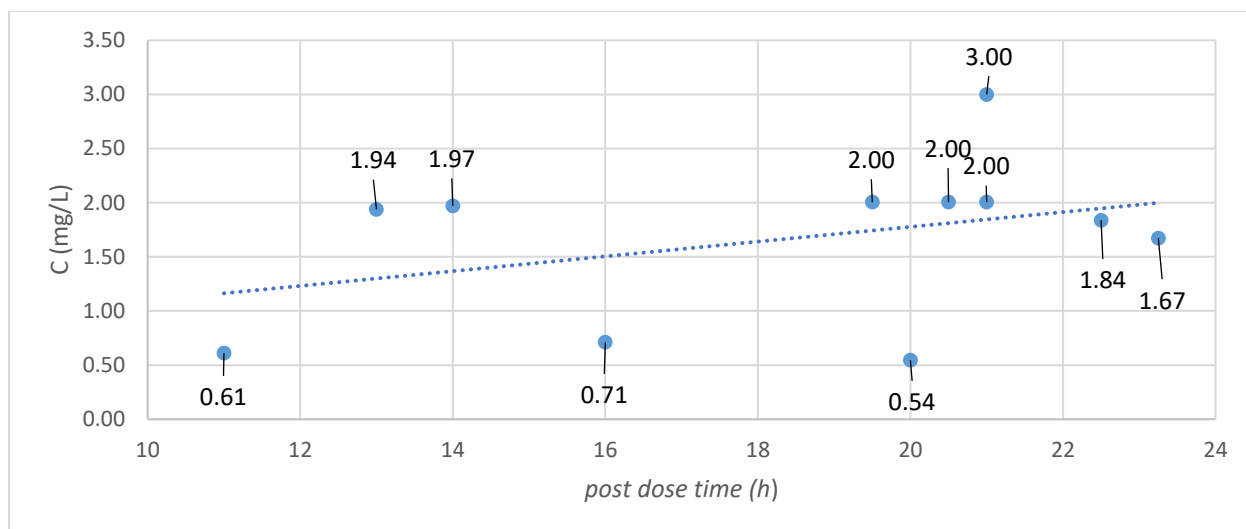
резултат сугерише да се РК у крви налази у ниској концентрацији у основном облику, а да су конјугати са глукуронидом и сулфатом основни метаболити који се јављају након дуже временске употребе препарата на бази екстракта који садржи РК.

Измерене концентрације РК (изражене у mg/L) за појединачне пацијенте испитиваних група су приказане на Сликама 5.8, 5.9 и 5.10, у зависности од времена протеклог од последње узете дозе матичњака (енг. *post dose time*).



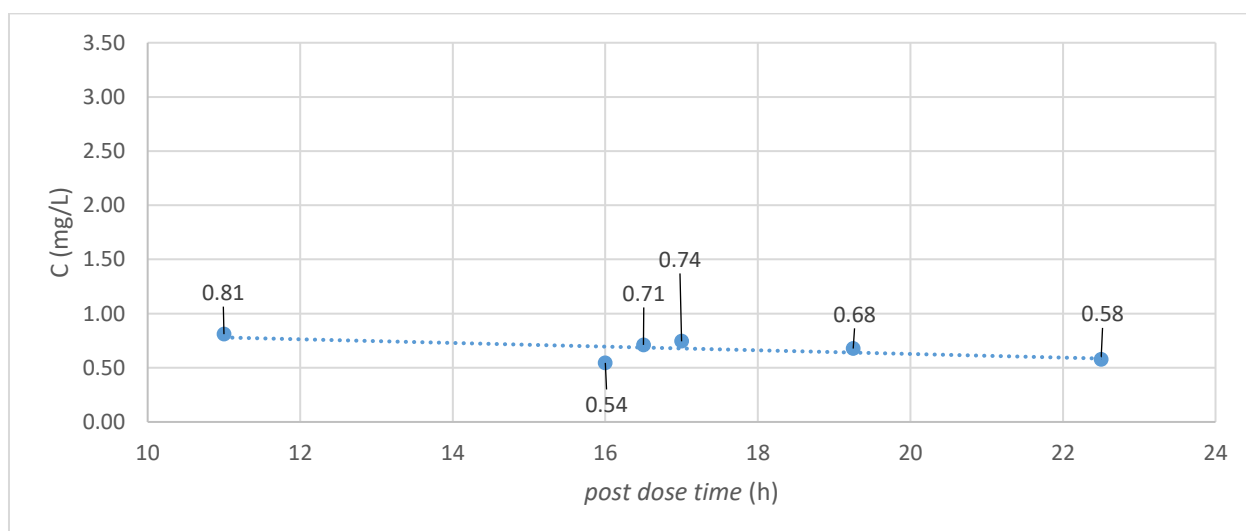
Слика 5.8. Концентрације розмаринске киселине на крају дозног периода у испитиваној групи ефавиренза.

На основу детектованих концентрација РК у испитиваној групи ефавиренза (Слика 5.8), уочава се тренд смањења концентрације са протеклим временом. За измерене вредности концентрација РК у крви и времена протеклог од узимања последње дозе матичњака, показана је негативна корелација на граници статистичке значајности ($r=-0,573$, $p=0,051$).



Слика 5.9. Концентрације розмаринске киселине на крају дозног периода у испитиваној групи дарунавира.

На основу детектованих концентрација РК у испитиваној групи дарунавира (Слика 5.9) не може се уочити тренд зависности концентрације од протеклог времена. Није показана статистички значајна корелација између концентрације РК и времена протеклог од узимања последње дозе матичњака ($r=0,375$, $p=0,255$).



Слика 5.10. Концентрације розмаринске киселине на крају дозног периода у испитиваној групи ралтегравира.

На основу детектованих концентрација РК у испитиваној групи ралтегравира (Слика 5.10) уочава се тренд смањења концентрације са протеклим временом. Није показана статистички

значајна корелација између концентрације РК и времена протеклог од узимања последње дозе матичњака ($r=-0,640$, $p=0,171$).

5.6. Одређивање концентрације антиретровирусних лекова у крви пацијената

Резултати испитивања концентрације антиретровирусних лекова приказани су у Табели 5.7.

Табела 5.7. Концентрације лекова на почетку и на крају периода испитивања.

група	пара- метар	време испити- вања	\bar{x}	SD	Min	Max	медијана	<i>p</i> - вред- ност
MAT+EFV		0. недеља	543,22	163,81	371,49	933,10	517,39	0,024
		12. недеља	541,32	144,81	388,59	854,89	495,98	0,086
K-EFV		0. недеља	809,47	573,92	296,88	1832,50	643,03	0,225
		12. недеља	543,81	247,33	120,56	875,37	579,50	0,619
MAT+DRV (1x)		0. недеља	408,97	158,15	266,34	677,95	373,28	0,147
		12. недеља	215,21	212,08	38,56	521,05	81,36	0,140
MAT+DRV (2x)		0. недеља	1189,54	459,11	694,71	1601,72	1272,18	0,701
		12. недеља	1094,17	615,15	701,99	1803,15	777,37	0,117
K-DRV (1x)	C _{trough}	0. недеља	#					
		12. недеља	#					
K-DRV (2x)		0. недеља	724,06	506,27	144,27	1078,72	949,18	0,245
		12. недеља	489,91	306,49	77,91	747,38	644,43	0,274
MAT+RAL		0. недеља	298,13	163,76	147,02	528,47	258,52	0,499
		12. недеља	276,86	86,90	150,29	345,67	305,75	0,192
K-RAL		0. недеља	302,66	100,97	147,99	410	315,78	0,582
		12. недеља	337,41	258,79	32,48	790,93	286,48	0,611

недовољно података за извођење статистике

Легенда: \bar{x} - средња вредност; SD- стандардна девијација; Min- минимум; Max- максимум;

C_{trough}- концентрација лека непосредно пред крај периода дозирања, ng/mL;

MAT+EFV- испитивана група ефавиренза; K-EFV- контролна група ефавиренза; MAT+DRV(1x)- испитивана група дарунавира који се узима једном дневно; MAT+DRV(2x)- испитивана група дарунавира који се узима два пута дневно; K-DRV(1x)- контролна група дарунавира који се узима једном дневно; K-DRV(2x)- контролна група дарунавира који се узима два пута дневно; MAT+RAL- испитивана група ралтегравира; K-RAL- контролна група ралтегравира

Концентрације лекова прате нормалну расподелу у свим групама изузев MAT+EFV на почетку тестирања.

Пример хроматограма анализираних плазми пацијената дат је у Прилогу 7.

Извршено је поређење концентрације лекова на почетку и на крају испитивања, и приказ је дат у Табели 5.8.

Табела 5.8. Тестирање статистичке значајности разлике концентрације лекова на почетку и на крају периода испитивања.

група	параметар	тест група 1	тест група 2	p вредност
		0. недеља ($\bar{x} \pm SD$)	12. недеља ($\bar{x} \pm SD$)	
MAT+EFV		543,22±163,81	541,32±144,81	0,937 ^a
K-EFV		809,47±573,92	543,81±247,33	0,243 ^b
MAT+DRV(1x)		408,97±158,15	215,21±212,08	0,219 ^b
MAT+DRV(2x)	C _{trough}	1189,54±459,11	1094,17±615,15	0,842 ^b
K-DRV(1x)		/	/	/ [#]
K-DRV(2x)		724,06±506,27	489,91±306,49	0,161 ^b
MAT+RAL		298,13±163,76	276,86±86,90	0,776 ^b
K-RAL		302,66±100,97	337,41±258,79	0,704 ^b

^a Вилкоксонов тест парова

^b Т-тест зависних узорака

[#] није могуће извести тест

Легенда: \bar{x} - средња вредност; SD- стандардна девијација; C_{trough}- концентрација лека непосредно пред крај периода дозирања, ng/mL;

MAT+EFV- испитивана група ефавиренза; K-EFV- контролна група ефавиренза; MAT+DRV(1x)- испитивана група дарунавира који се узима једном дневно; MAT+DRV(2x)- испитивана група дарунавира који се узима два пута дневно; K-DRV(1x)- контролна група дарунавира који се узима једном дневно; K-DRV(2x)- контролна група дарунавира који се узима два пута дневно; MAT+RAL- испитивана група ралтегавира; K-RAL- контролна група ралтегавира

Није пронађена статистички значајна разлика на почетку и на крају тестирања у групама.

Извршено је поређење концентрације лекова између испитиване и контролне групе, и приказ резултата је дат у Табели 5.9.

Табела 5.9. Тестирање статистичке значајности разлике концентрације лекова између испитиване и контролне групе.

време испитивања	параметар	тест група 1 ($\bar{x} \pm SD$)	тест група 2 ($\bar{x} \pm SD$)	p вредност
		MAT+EFV	K-EFV	
0. недеља		543,22±163,81	809,47±573,92	0,673 ^a
12. недеља		541,32±144,81	543,81±247,33	0,978 ^b
		MAT+DRV(1x)	K-DRV(1x)	
0. недеља	C _{trough}	408,97±158,15	/	#
12. недеља		215,21±212,08	/	#
		MAT+DRV(2x)	K-DRV(2x)	
0. недеља		1189,54±459,11	724,06±506,27	0,304 ^b
12. недеља	1094,17±615,15	489,91±306,49	0,216 ^b	
		MAT+RAL	K-RAL	
0. недеља		298,13±163,76	302,66±100,97	0,958 ^b
12. недеља		276,86±86,90	337,41±258,79	0,669 ^b

^a Мен-Витни U-тест^b T-тест независних узорака

није могуће извести тест

Легенда: \bar{x} - средња вредност; SD- стандардна девијација; C_{trough}- концентрација лека непосредно пред крај периода дозирања, ng/mL;

MAT+EFV- испитивана група ефавиренза; K-EFV- контролна група ефавиренза; MAT+DRV(1x)- испитивана група дарунавира који се узима једном дневно; MAT+DRV(2x)- испитивана група дарунавира који се узима два пута дневно; K-DRV(1x)- контролна група дарунавира који се узима једном дневно; K-DRV(2x)- контролна група дарунавира који се узима два пута дневно; MAT+RAL- испитивана група ралтегравира; K-RAL- контролна група ралтегравира

Није пронађена статистички значајна разлика између испитиваних и одговарајућих контролних група.

5.7. Одређивање броја копија HIV РНК

Један од критеријума за укључивање пацијената у испитивање било је одсуство вируса у крви, односно негативан PCR HIV РНК. На почетку и на крају испитивања, пацијенти су остали недетектабилни.

5.8. Одређивање хематолошких параметара у крви пацијената

Резултати испитаних параметара крвне слике приказани су у Табелама 5.10, 5.11 и 5.12.

Табела 5.10. Параметри крвне слике у групама ефавиренза.

група	пара- метар	време испитивања	\bar{x}	SD	Min	Max	медијана	<i>p</i> вред- ност	
МАТ+ EFV	Erc	0. недеља	4,75	0,60	4,20	6,15	4,52	0,020	
		12. недеља	4,77	0,45	4,30	5,80	4,75	0,062	
	Hgb	0. недеља	157,50	17,70	139	191	151	0,044	
		12. недеља	160,90	16,79	142	189	154	0,105	
	Leu	0. недеља	6,29	1,40	4,00	9,31	6,00	0,966	
		12. недеља	6,53	1,45	4,64	10,12	6,41	0,032	
	Trc	0. недеља	239,36	53,82	166	323	235	0,382	
		12. недеља	208,90	64,21	128	364	199	0,132	
	К-EFV	Erc	0. недеља	4,60	0,37	4,12	5,14	4,53	0,982
			12. недеља	4,84	0,41	4,30	5,23	5,04	0,299
Hgb		0. недеља	151	11,61	139	173	149	0,274	
		12. недеља	156,60	11,72	143	168	162	0,157	
Leu		0. недеља	5,82	1,56	4,31	8,00	5,34	0,257	
		12. недеља	5,42	1,04	4,20	7,00	5,30	0,878	
Trc		0. недеља	247,50	51,24	161	309	251	0,840	
		12. недеља	258,40	41,42	212	302	266	0,307	

Легенда: \bar{x} - средња вредност; SD- стандардна девијација; Min- минимум; Max- максимум;

Erc- број еритроцита, $10^{12}/L$; Hgb- концентрација хемоглобина, g/L; Leu- број леукоцита, $10^9/L$; Trc- број тромбоцита, $10^9/L$;

МАТ+EFV- испитивана група ефавиренза; К-EFV- контролна група ефавиренза

Показано је да већина параметара прати нормалну расподелу. Параметри који нису пратили нормалну расподелу су нивои Erc и Hgb на почетку тестирања, и нивои Leu на крају тестирања.

Табела 5.11. Параметри крвне слике у групама дарунавира.

група	пара-метар	време испитивања	\bar{x}	SD	Min	Max	медијана	p вредност	
MAT+DRV	Erc	0. недеља	4,82	0,59	4,17	6,41	4,67	0,422	
		12. недеља	4,55	0,26	4,20	4,96	4,50	0,656	
	Hgb	0. недеља	147	11,23	132	168	146	0,902	
		12. недеља	146,50	13,33	124	158	152,50	0,015	
	Leu	0. недеља	7,78	3,21	4,40	16,00	6,80	0,134	
		12. недеља	7,49	2,10	5,30	10,89	7,05	0,260	
	Trc	0. недеља	215,27	67,28	85	311	227	0,744	
		12. недеља	278,38	101,60	160	501	263	0,028	
	K-DRV	Erc	0. недеља	4,81	0,26	4,56	5,11	4,80	0,000
			12. недеља	4,85	0,12	4,71	4,69	4,87	0,067
Hgb		0. недеља	152,80	9,65	141	163	154	0,363	
		12. недеља	151	5,29	145	155	153	0,363	
Leu		0. недеља	7,64	2,85	4,44	11,37	7,37	0,040	
		12. недеља	6,88	0,70	6,46	7,69	6,50	0,055	
Trc		0. недеља	231,25	69,84	159	323	221,50	0,488	
		12. недеља	222,33	41,86	174	247	246	0,023	

Легенда: \bar{x} - средња вредност; SD- стандардна девијација; Min- минимум; Max- максимум;
 Erc- број еритроцита, $10^{12}/L$; Hgb- концентрација хемоглобина, g/L; Leu- број леукоцита, $10^9/L$; Trc- број
 тромбоцита, $10^9/L$;
 MAT+DRV- испитивана група дарунавира; K-DRV- контролна група дарунавира

Показано је да већина параметара прати нормалну расподелу. Параметри који нису пратили нормалну расподелу су: у групи MAT+DRV- нивои Hgb и Trc на крају тестирања; и у групи K-DRV- нивои Leu на почетку тестирања и нивои Trc на крају тестирања.

Табела 5.12. Параметри крвне слике у групама ралтегравира.

група	пара- метар	време испитивања	\bar{x}	SD	Min	Max	медијана	<i>p</i> вред- ност
MAT+ RAL	Erc	0. недеља	4,75	0,23	4,51	5,09	4,70	0,585
		12. недеља	4,95	0,52	4,59	5,70	4,76	0,126
	Hgb	0. недеља	150,20	6,69	140	156	153	0,773
		12. недеља	154,50	10,47	142	165	155,50	0,688
	Leu	0. недеља	6,10	0,50	5,30	6,58	6,30	0,790
		12. недеља	6,15	0,53	5,50	6,80	6,15	0,869
	Trc	0. недеља	240,80	41,20	194	301	225	0,929
		12. недеља	224,25	9,43	213	235	224,50	0,977
K-RAL	Erc	0. недеља	5,00	0,31	4,47	5,40	5,02	0,442
		12. недеља	4,97	0,21	4,66	5,23	5,04	0,604
	Hgb	0. недеља	155	7,07	146	167	154	0,925
		12. недеља	155,60	10,09	145	167	154	0,473
	Leu	0. недеља	6,16	0,98	5,50	8,10	5,88	0,308
		12. недеља	6,11	2,76	1,60	8,61	6,19	0,510
	Trc	0. недеља	210,40	60,06	143	300	192	0,923
		12. недеља	227,20	91,20	143	378	221	0,314

Легенда: \bar{x} - средња вредност; SD- стандардна девијација; Min- минимум; Max- максимум;
 Erc- број еритроцита, $10^{12}/L$; Hgb- концентрација хемоглобина, g/L; Leu- број леукоцита, $10^9/L$; Trc- број
 тромбоцита, $10^9/L$;
 MAT+RAL- испитивана група ралтегравира; K-RAL- контролна група ралтегравира

Сви параметри прате нормалну расподелу.

Извршено је поређење вредности параметара крвне слике на почетку и на крају периода испитивања, и приказ резултата је дат у Табели 5.13.

Табела 5.13. Тестирање статистичке значајности разлике параметара крвне слике на почетку и на крају периода испитивања.

група	параметар	тест група 1		тест група 2		p вредност
		0. недеља ($\bar{x} \pm SD$)	12. недеља ($\bar{x} \pm SD$)			
MAT+EFV	Erc	4,75±0,60	4,77±0,45			0,678 ^a
	Hgb	157,50±17,70	160,90±16,79			0,475 ^a
	Leu	6,29±1,40	6,53±1,45			0,721 ^a
	Trc	239,36±53,82	208,90±64,21			0,351 ^b
K-EFV	Erc	4,60±0,37	4,84±0,41			0,306 ^b
	Hgb	151±11,61	156,60±11,72			0,235 ^b
	Leu	5,82±1,56	5,42±1,04			0,888 ^b
	Trc	247,50±51,24	258,40±41,42			0,463 ^b
MAT+DRV	Erc	4,82±0,59	4,55±0,26			0,356 ^b
	Hgb	147±11,23	146,50±13,33			0,933 ^a
	Leu	7,78±3,21	7,49±2,10			0,058 ^b
	Trc	215,27±67,28	278,38±101,60			0,116 ^a
K-DRV	Erc	4,81±0,26	4,85±0,12			0,785 ^a
	Hgb	152,80±9,65	151±5,29			0,848 ^b
	Leu	7,64±2,85	6,88±0,70			0,593 ^a
	Trc	231,25±69,84	222,33±41,86			1,000 ^a
MAT+RAL	Erc	4,75±0,23	4,95±0,52			0,459 ^b
	Hgb	150,20±6,69	154,50±10,47			0,307 ^b
	Leu	6,10±0,50	6,15±0,53			0,733 ^b
	Trc	240,80±41,20	224,25±9,43			0,453 ^b
K-RAL	Erc	5,00±0,31	4,97±0,21			0,585 ^b
	Hgb	155±7,07	155,60±10,09			0,510 ^b
	Leu	6,16±0,98	6,11±2,76			0,939 ^b
	Trc	210,40±60,06	227,20±91,20			0,885 ^b

^a Вилкоксонов тест парова^b Т-тест зависних узорака

Легенда: \bar{x} - средња вредност; SD- стандардна девијација; Erc- број еритроцита, $10^{12}/L$; Hgb- концентрација хемоглобина, g/L; Leu- број леукоцита, $10^9/L$; Trc- број тромбоцита, $10^9/L$;

MAT+EFV- испитивана група ефавиренза; K-EFV- контролна група ефавиренза; MAT+DRV- испитивана група дарунавира; K-DRV- контролна група дарунавира; MAT+RAL- испитивана група ралтегравира; K-RAL- контролна група ралтегравира

Није пронађена статистички значајна разлика на почетку и на крају тестирања у групама.

Извршено је поређење параметара крвне слике између испитиване и контролне групе, и приказ резултата је дат у Табели 5.14.

Табела 5.14. Тестирање статистичке значајности разлике параметара крвне слике између испитиване и контролне групе.

време испитивања	параметар	тест група 1	тест група 2	p вредност
		($\bar{x} \pm SD$)	($\bar{x} \pm SD$)	
		MAT+EFV	K-EFV	
0. недеља	Erc	4,75±0,60	4,60±0,37	0,743 ^a
	Hgb	157,50±17,70	151±11,61	0,650 ^a
	Leu	6,29±1,40	5,82±1,56	0,531 ^b
	Trc	239,36±53,82	247,50±51,24	0,766 ^b
12. недеља	Erc	4,77±0,45	4,84±0,41	0,770 ^b
	Hgb	160,90±16,79	156,60±11,72	0,619 ^b
	Leu	6,53±1,45	5,42±1,04	0,125 ^a
	Trc	208,90±64,21	258,40±41,42	0,144 ^b
		MAT+DRV	K-DRV	
0. недеља	Erc	4,82±0,59	4,81±0,26	0,394 ^a
	Hgb	147±11,23	152,80±9,65	0,337 ^b
	Leu	7,78±3,21	7,64±2,85	0,896 ^a
	Trc	215,27±67,28	231,25±69,84	0,693 ^b
12. недеља	Erc	4,55±0,26	4,85±0,12	0,056 ^b
	Hgb	146,50±13,33	151±5,29	0,837 ^a
	Leu	7,49±2,10	6,88±0,70	0,645 ^b
	Trc	278,38±101,60	222,33±41,86	0,307 ^a
		MAT+RAL	K-RAL	
0. недеља	Erc	4,75±0,23	5,00±0,31	0,157 ^b
	Hgb	150,20±6,69	155±7,07	0,264 ^b
	Leu	6,10±0,50	6,16±0,98	0,893 ^b
	Trc	240,80±41,20	210,40±60,06	0,378 ^b
12. недеља	Erc	4,95±0,52	4,97±0,21	0,922 ^b
	Hgb	154,50±10,47	155,60±10,09	0,877 ^b
	Leu	6,15±0,53	6,11±2,76	0,978 ^b
	Trc	224,25±9,43	227,20±91,20	0,951 ^b

^a Мен-Витни U-тест

^b T-тест независних узорака

Легенда: \bar{x} - средња вредност; SD- стандардна девијација; Erc- број еритроцита, $10^{12}/L$; Hgb- концентрација хемоглобина, g/L; Leu- број леукоцита, $10^9/L$; Trc- број тромбоцита, $10^9/L$;

MAT+EFV- испитивана група ефавиренза; K-EFV- контролна група ефавиренза; MAT+DRV- испитивана група дарунавира; K-DRV- контролна група дарунавира; MAT+RAL- испитивана група ралтегравира; K-RAL- контролна група ралтегравира

Није пронађена статистички значајна разлика између испитиване и контролне групе.

Извршено је међусобно поређење свих испитиваних и свих контролних група. Резултати су приказани у Табели 5.15.

Табела 5.15. Тестирање статистичке значајности међусобне разлике параметара крвне слике између испитиваних група и између контролних група.

време испитивања	параметар	тест група 1	тест група 2	тест група 3	p вредност	
		($\bar{x} \pm SD$)	($\bar{x} \pm SD$)	($\bar{x} \pm SD$)		
0. недеља		MAT+EFV	MAT+DRV	MAT+RAL		
	Hgc	4,75±0,60	4,82±0,59	4,75±0,23	0,698 ^a	
	Hgb	157,50±17,70	147±11,23	150,20±6,69	0,470 ^a	
	Leu	6,29±1,40	7,78±3,21	6,10±0,50	0,221 ^b	
	Trc	239,36±53,82	215,27±67,28	240,80±41,20	0,566 ^b	
		K-EFV	K-DRV	K-RAL		
	Hgc	4,60±0,37	4,81±0,26	5,00±0,31	0,172 ^a	
	Hgb	151±11,61	152,80±9,65	155±7,07	0,752 ^b	
	Leu	5,82±1,56	7,64±2,85	6,16±0,98	0,560 ^a	
	Trc	247,50±51,24	231,25±69,84	210,40±60,06	0,599 ^b	
	12. недеља		MAT+EFV	MAT+DRV	MAT+RAL	
		Hgc	4,77±0,45	4,55±0,26	4,95±0,52	0,269 ^b
Hgb		160,90±16,79	146,50±13,33	154,50±10,47	0,404 ^a	
Leu		6,53±1,45	7,49±2,10	6,15±0,53	0,532 ^a	
Trc		208,90±64,21	278,38±101,60	224,25±9,43	0,173 ^b	
		K-EFV	K-DRV	K-RAL		
Hgc		4,84±0,41	4,85±0,12	4,97±0,21	0,691 ^b	
Hgb		156,60±11,72	151±5,29	155,60±10,09	0,741 ^b	
Leu		5,42±1,04	6,88±0,70	6,11±2,76	0,584 ^b	
Trc		258,40±41,42	222,33±41,86	227,20±91,20	0,565 ^a	

^a Краскал-Волис тест

^b анализа варијансе

Легенда: \bar{x} - средња вредност; SD- стандардна девијација; Hgc- број еритроцита, $10^{12}/L$; Hgb- концентрација хемоглобина, g/L; Leu- број леукоцита, $10^9/L$; Trc- број тромбоцита, $10^9/L$;

MAT+EFV- испитивана група ефавиренза; K-EFV- контролна група ефавиренза; MAT+DRV- испитивана група дарунавира; K-DRV- контролна група дарунавира; MAT+RAL- испитивана група ралтегравира; K-RAL- контролна група ралтегравира

Није пронађена статистички значајна разлика између испитиваних нити између контролних група.

5.9. Одређивање имунолошких параметара у крви пацијената

Резултати испитивања нивоа CD4+ Т- лимфоцита приказани су у Табели 5.16.

Табела 5.16. Нивои CD4+ Т- лимфоцита.

група	пара- метар	време испитивања	\bar{x}	SD	Min	Max	медијана	<i>p</i> - вред- ност
MAT+	EFV	0. недеља	926	282,07	402	1296	1014	0,697
		12. недеља	968,25	356,87	331	1439	1025,50	0,735
K-EFV		0. недеља	826,86	300,99	472	1248	699	0,216
		12. недеља	972	261,28	560	1274	1078	0,243
MAT+	DRV	0. недеља	982,15	806,02	296	2000	784	0,063
		12. недеља	1019,46	596	219	2000	844	0,242
K-	DRV	0. недеља	795,33	204,52	453	979	842,50	0,321
		12. недеља	905	325,20	514	1307	825	0,393
MAT+	RAL	0. недеља	854,50	639,53	240	1968	733,50	0,625
		12. недеља	1055,60	650,55	493	2000	745	0,266
K-RAL		0. недеља	529	119,06	380	669	478	0,161
		12. недеља	484,17	123,34	304	686	474	0,596

Легенда: \bar{x} - средња вредност; SD- стандардна девијација; Min- минимум; Max- максимум;

CD4+- број CD4+ Т-лимфоцита, број /mL;

MAT+EFV- испитивана група ефавиренза; K-EFV- контролна група ефавиренза; MAT+DRV- испитивана група дарунавира; K-DRV- контролна група дарунавира; MAT+RAL- испитивана група ралтегавира; K-RAL- контролна група ралтегавира

Нивои CD4+ Т- лимфоцита у свим групама прате нормалну расподелу.

Извршено је поређење нивоа CD4+ Т- лимфоцита на почетку и на крају испитивања, и приказ резултата је дат у Табели 5.17.

Табела 5.17. Тестирање статистичке значајности разлике нивоа CD4+ Т- лимфоцита на почетку и на крају периода испитивања.

група	параметар	тест група 1	тест група 2	p вредност
		0. недеља ($\bar{x} \pm SD$)	12. недеља ($\bar{x} \pm SD$)	
MAT+EFV	CD4+	926 \pm 282,07	968,25 \pm 356,87	0,995 ^a
K-EFV		826,86 \pm 300,99	972 \pm 261,28	0,075 ^a
MAT+DRV		982,15 \pm 806,02	1019,46 \pm 596	0,671 ^a
K-DRV		795,33 \pm 204,52	905 \pm 325,20	0,273 ^a
MAT+RAL		854,50 \pm 639,53	1055,60 \pm 650,55	0,757 ^a
K-RAL		529 \pm 119,06	484,17 \pm 123,34	0,674 ^a

^a Т-тест зависних узорака

Легенда: \bar{x} - средња вредност; SD- стандардна девијација; CD4+- број CD4+ Т-лимфоцита, број /mL; MAT+EFV- испитивана група ефавиренза; K-EFV- контролна група ефавиренза; MAT+DRV- испитивана група дарунавира; K-DRV- контролна група дарунавира; MAT+RAL- испитивана група ралтегравира; K-RAL- контролна група ралтегравира

Није пронађена статистички значајна разлика на почетку и на крају тестирања у групама.

Извршено је поређење нивоа CD4+ Т- лимфоцита између испитиване и контролне групе, и приказ резултата је дат у Табели 5.18.

Табела 5.18. Тестирање статистичке значајности разлике нивоа CD4+ Т- лимфоцита између испитиване и контролне групе.

време испитивања	параметар	тест група 1 ($\bar{x} \pm SD$)	тест група 2 ($\bar{x} \pm SD$)	<i>p</i> вредност
		MAT+EFV	K-EFV	
0. недеља	CD4+	926±282,07	826,86±300,99	0,489 ^a
12. недеља		968,25±356,87	972±261,28	0,981 ^a
		MAT+DRV	K-DRV	
0. недеља		982,15±806,02	795,33±204,52	0,335 ^a
12. недеља		1019,46±596	905±325,20	0,597 ^a
		MAT+RAL	K-RAL	
0. недеља	854,50±639,53	529±119,06	0,271 ^a	
12. недеља	1055,60±650,55	484,17±123,34	0,121 ^a	

^a Т-тест независних узорака

Легенда: \bar{x} - средња вредност; SD- стандардна девијација; CD4+- број CD4+ Т-лимфоцита, број /mL; MAT+EFV- испитивана група ефавиренза; K-EFV- контролна група ефавиренза; MAT+DRV- испитивана група дарунавира; K-DRV- контролна група дарунавира; MAT+RAL- испитивана група ралтегравира; K-RAL- контролна група ралтегравира

Није пронађена статистички значајна разлика између испитиване и контролне групе.

Извршено је међусобно поређење свих испитиваних и свих контролних група. Резултати су показани у Табели 5.19.

Табела 5.19. Тестирање статистичке значајности међусобне разлике нивоа CD4+ Т-лимфоцита између испитиваних група и између контролних група.

време испитивања	пара-метар	тест група 1 ($\bar{x} \pm SD$)	тест група 2 ($\bar{x} \pm SD$)	тест група 3 ($\bar{x} \pm SD$)	p вредност
0. недеља	CD4+	MAT+EFV	MAT+DRV	MAT+RAL	0,881 ^a
		926±282,07	982,15±806,02	854,50±639,53	
		K-EFV	K-DRV	K-RAL	0,045 ^a
		826,86±300,99	795,33±204,52	529±119,06	
12. недеља	CD4+	MAT+EFV	MAT+DRV	MAT+RAL	0,944 ^a
		968,25±356,87	1019,46±596	1055,60±650,55	
		K-EFV	K-DRV	K-RAL	0,007 ^a
		972±261,28	905±325,20	484,17±123,34	

^a анализа варијансе

Легенда: \bar{x} - средња вредност; SD- стандардна девијација; CD4+- број CD4+ Т-лимфоцита, број /mL; MAT+EFV- испитивана група ефавиренза; K-EFV- контролна група ефавиренза; MAT+DRV- испитивана група дарунавира; K-DRV- контролна група дарунавира; MAT+RAL- испитивана група ралтегравира; K-RAL- контролна група ралтегравира

Показана је статистички значајна разлика између нивоа CD4+ Т-лимфоцита контролних група и на почетку и на крају тестирања.

5.10. Одређивање биохемијских параметара у крви пацијената

5.10.1 Одређивање параметара метаболизма угљених хидрата

Резултати испитивања параметара метаболизма угљених хидрата приказани су у Табели 5.20.

Табела 5.20. Параметри метаболизма угљених хидрата.

група	пара- метар	време испитивања	\bar{x}	SD	Min	Max	медијана	<i>p</i> вредност
MAT+ EFV	ШУК	0. недеља	5,75	0,85	4,80	7,30	5,50	0,129
		12. недеља	5,78	1,14	4,50	8,40	6,00	0,147
	инсулин	0. недеља	13,21	6,26	8,00	20,73	12,06	0,268
		12. недеља	8,63	5,14	2,80	12,50	10,60	0,355
K-EFV	ШУК	0. недеља	6,06	1,11	5,19	8,24	5,80	0,031
		12. недеља	5,70	0,31	5,30	6,10	5,60	0,811
	инсулин	0. недеља	12,14	5,19	6,20	18,00	12,17	0,897
		12. недеља				/#		
MAT+ DRV	ШУК	0. недеља	6,42	3,47	4,40	16,70	5,40	0,042
		12. недеља	5,42	0,44	4,80	6,00	5,50	0,701
	инсулин	0. недеља	19,16	27,10	4,20	74,10	9,46	0,001
		12. недеља	10,64	3,22	7,10	14,05	9,59	0,224
K- DRV	ШУК	0. недеља	5,11	1,22	3,30	5,90	5,61	0,274
		12. недеља	4,93	1,13	3,70	5,90	5,20	0,605
	инсулин	0. недеља				/#		
		12. недеља	9,20	6,92	4,20	17,10	6,30	0,291
MAT+ RAL	ШУК	0. недеља	5,26	0,62	4,70	6,30	5,00	0,683
		12. недеља	5,23	0,21	5,00	5,40	5,25	0,161
	инсулин	0. недеља	8,95	3,16	5,00	12,40	9,20	0,953
		12. недеља	9,70	1,98	8,30	11,10	9,70	/##
K- RAL	ШУК	0. недеља	5,57	0,44	5,10	6,30	5,50	0,957
		12. недеља	5,24	0,49	4,50	5,80	5,30	0,870
	инсулин	0. недеља	11,60	1,97	10,0	13,80	11,00	0,490
		12. недеља	11,35	3,61	8,80	13,90	11,35	/##

анализа није спроведена услед квара аналитичког уређаја

тестирање нормалности расподеле није могуће услед недовољно података

Легенда: \bar{x} - средња вредност; SD- стандардна девијација; Min- минимум; Max- максимум;ШУК- концентрација шећера у крви, mmol/L; инсулин- концентрација инсулина, μ IU/mL;

MAT+EFV- испитивана група ефавиренза; K-EFV- контролна група ефавиренза; MAT+DRV- испитивана група дарунавира; K-DRV- контролна група дарунавира; MAT+RAL- испитивана група ралтегравира; K-

RAL- контролна група ралтегравира

Показано је да већина параметара прати нормалну расподелу. Вредности ШУК на почетку испитивања у групама K-EFV, као и ШУК и инсулин у групи MAT+DRV не прате нормалну расподелу.

Извршено је поређење вредности параметара метаболизма угљених хидрата на почетку и на крају периода испитивања, и приказ резултата је дат у Табели 5.21.

Табела 5.21. Тестирање статистичке значајности разлике параметара метаболизма угљених хидрата на почетку и на крају периода испитивања.

група	параметар	тест група 1		тест група 2		p вредност
		0. недеља ($\bar{x} \pm SD$)	12. недеља ($\bar{x} \pm SD$)			
MAT+EFV	ШУК	5,75±0,85	5,78±1,14		0,729 ^a	
	инсулин	13,21±6,26	8,63±5,14		/ [#]	
K-EFV	ШУК	6,06±1,11	5,70±0,31		0,223 ^b	
	инсулин	12,14±5,19	/		/ [#]	
MAT+DRV	ШУК	6,42±3,47	5,42±0,44		0,248 ^b	
	инсулин	19,16±27,10	10,64±3,22		1,000 ^b	
K-DRV	ШУК	5,11±1,22	4,93±1,13		0,936 ^a	
	инсулин	/	9,20±6,92		/ [#]	
MAT+RAL	ШУК	5,26±0,62	5,23±0,21		0,370 ^a	
	инсулин	8,95±3,16	9,70±1,98		/ [#]	
K-RAL	ШУК	5,57±0,44	5,24±0,49		0,068 ^a	
	инсулин	11,60±1,97	11,35±3,61		/ [#]	

^a Т-тест зависних узорака

^b Вилкоксонов тест парова

[#] није могуће извести тест

Легенда: \bar{x} - средња вредност; SD- стандардна девијација; ШУК- концентрација шећера у крви, mmol/L; инсулин- концентрација инсулина, μ IU/mL;

MAT+EFV- испитивана група ефавиренза; K-EFV- контролна група ефавиренза; MAT+DRV- испитивана група дарунавира; K-DRV- контролна група дарунавира; MAT+RAL- испитивана група ралтегравира; K-RAL- контролна група ралтегравира

Није показана статистички значајна разлика између нивоа параметара метаболизма угљених хидрата на почетку ни на крају тестирања.

Извршено је поређење вредности параметара метаболизма угљених хидрата између испитиване и контролне групе, и приказ резултата је дат у Табели 5.22.

Табела 5.22. Тестирање статистичке значајности разлике параметара метаболизма угљених хидрата између испитиване и контролне групе.

време испитивања	параметар	тест група 1	тест група 2	p вредност
		($\bar{x} \pm SD$)	($\bar{x} \pm SD$)	
		MAT+EFV	K-EFV	
0. недеља	ШУК	5,75±0,85	6,06±1,11	0,573 ^a
	инсулин	13,21±6,26	12,14±5,19	0,800 ^b
12. недеља	ШУК	5,78±1,14	5,70±0,31	0,880 ^b
	инсулин	8,63±5,14	/	/ [#]
		MAT+DRV	K-DRV	
0. недеља	ШУК	6,42±3,47	5,11±1,22	0,948 ^a
	инсулин	19,16±27,10	/	/ [#]
12. недеља	ШУК	5,42±0,44	4,93±1,13	0,322 ^b
	инсулин	10,64±3,22	9,20±6,92	0,456 ^a
		MAT+RAL	K-RAL	
0. недеља	ШУК	5,26±0,62	5,57±0,44	0,362 ^b
	инсулин	8,95±3,16	11,60±1,97	0,263 ^b
12. недеља	ШУК	5,23±0,21	5,24±0,49	0,956 ^b
	инсулин	9,70±1,98	11,35±3,61	/ [#]

^a Мен-Витни U-тест^b T-тест независних узорака[#] није могуће извести тест

Легенда: \bar{x} - средња вредност; SD- стандардна девијација; ШУК- концентрација шећера у крви, mmol/L; инсулин- концентрација инсулина, μ IU/mL;

MAT+EFV- испитивана група ефавиренза; K-EFV- контролна група ефавиренза; MAT+DRV- испитивана група дарунавира; K-DRV- контролна група дарунавира; MAT+RAL- испитивана група ралтегравира; K-RAL- контролна група ралтегравира

Није показана статистички значајна разлика између нивоа ШУК и инсулина између испитиваних и контролних група.

Извршено је међусобно поређење свих испитиваних и свих контролних група. Резултати су показани у Табели 5.23.

Табела 5.23. Тестирање статистичке значајности међусобне разлике параметара метаболизма угљених хидрата између испитиваних група и између контролних група.

време испитивања	параметар	тест група 1 ($\bar{x} \pm SD$)	тест група 2 ($\bar{x} \pm SD$)	тест група 3 ($\bar{x} \pm SD$)	<i>p</i> вредност
0. недеља		MAT+EFV	MAT+DRV	MAT+RAL	
	ШУК	5,75±0,85	6,42±3,47	5,26±0,62	0,469 ^a
	инсулин	13,21±6,26	19,16±27,10	8,95±3,16	0,696 ^b
		K-EFV	K-DRV	K-RAL	
	ШУК	6,06±1,11	5,11±1,22	5,57±0,44	0,618 ^a
	инсулин	12,14±5,19	/	11,60±1,97	/ [#]
12. недеља		MAT+EFV	MAT+DRV	MAT+RAL	
	ШУК	5,78±1,14	5,42±0,44	5,23±0,21	0,494 ^b
	инсулин	8,63±5,14	10,64±3,22	9,70±1,98	/ [#]
		K-EFV	K-DRV	K-RAL	
	ШУК	5,70±0,31	4,93±1,13	5,24±0,49	0,260 ^b
	инсулин	/	9,20±6,92	11,35±3,61	/ [#]

^a Краскал-Волис тест

^b анализа варијансе

[#] није могуће извести тест

Легенда: \bar{x} - средња вредност; SD- стандардна девијација; ШУК- концентрација шећера у крви, mmol/L;
инсулин- концентрација инсулина, μ IU/mL;

MAT+EFV- испитивана група ефавиренза; K-EFV- контролна група ефавиренза; MAT+DRV- испитивана група дарунавира; K-DRV- контролна група дарунавира; MAT+RAL- испитивана група ралтегравира; K-RAL- контролна група ралтегравира

Није показана статистички значајна разлика између нивоа ШУК и инсулина испитиваних нити између контролних група.

5.10.2 Одређивање параметара метаболизма липида

Резултати испитивања параметара метаболизма липида приказани су у Табелама 5.24, 5.25 и 5.26.

Табела 5.24. Параметри метаболизма липида у групама ефавиренза.

група	параметар	време		\bar{x}	SD	Min	Max	медијана	P вредност	
		испити вања								
MAT+EFV	HOL	0. недеља		5,51	0,87	4,27	7,18	5,51	0,255	
		12. недеља		5,27	1,06	3,96	7,33	5,20	0,151	
	LDL	0. недеља		3,14	0,73	2,12	4,53	2,96	0,629	
		12. недеља		4,20	3,48	2,36	13,33	2,84	0,085	
	HDL	0. недеља		1,17	0,39	0,62	1,90	1,09	0,513	
		12. недеља		1,06	0,26	0,70	1,63	1,02	0,386	
	TG	0. недеља		2,26	1,91	0,80	6,39	1,38	0,058	
		12. недеља		2,43	2,16	0,69	7,50	1,60	0,035	
	K-EFV	HOL	0. недеља		5,62	0,64	4,80	6,60	5,65	0,734
			12. недеља		5,01	1,15	3,63	6,65	4,60	0,800
LDL		0. недеља		3,54	0,91	2,46	4,93	3,30	0,807	
		12. недеља		2,96	0,99	1,36	3,93	3,03	0,437	
HDL		0. недеља		1,30	0,12	1,12	1,48	1,30	0,686	
		12. недеља		1,46	0,37	1,14	2,09	1,36	0,278	
TG		0. недеља		1,81	0,93	0,67	3,08	1,75	0,468	
		12. недеља		1,19	0,59	0,56	2,09	1,26	0,656	

Легенда: \bar{x} - средња вредност; SD- стандардна девијација; Min- минимум; Max- максимум;
HOL- концентрација укупног холестерола, mmol/L; LDL- концентрација липопротеина ниске густине,
mmol/L; HDL- концентрација липопротеина високе густине, mmol/L; TG- концентрација триглицерида,
mmol/L;

MAT+EFV- испитивана група ефавиренза; K-EFV- контролна група ефавиренза

Сви испитивани параметри прате нормалну расподелу изузев концентрације триглицерида на крају испитивања у испитиваној групи.

Табела 5.25. Параметри метаболизма липида у групама дарунавира.

група	параметар	време		\bar{x}	SD	Min	Max	медијана	P вредност	
		испити	вања							
MAT+DRV	HOL	0. недеља		5,58	1,36	4,11	8,20	5,67	0,349	
		12. недеља		4,80	0,43	4,27	5,36	4,70	0,597	
	LDL	0. недеља		3,43	1,02	2,24	5,37	3,15	0,663	
		12. недеља		3,45	1,67	2,00	7,01	2,89	0,906	
	HDL	0. недеља		1,06	0,24	0,60	1,30	1,11	0,455	
		12. недеља		0,99	0,33	0,49	1,50	1,03	0,952	
	TG	0. недеља		3,52	6,00	0,97	21,51	1,79	0,227	
		12. недеља		1,75	0,50	0,93	2,32	1,77	0,771	
	K-DRV	HOL	0. недеља		4,68	1,39	3,75	6,28	4,01	0,000
			12. недеља		5,57	1,33	4,06	6,60	6,06	0,000
LDL		0. недеља		3,30	1,69	2,07	5,23	2,60	0,000	
		12. недеља		3,23	0,90	2,60	3,87	3,23	0,000	
HDL		0. недеља		0,70	0,19	0,49	0,84	0,79	0,000	
		12. недеља		1,22	0,33	0,97	1,60	1,10	0,000	
TG		0. недеља		1,49	0,34	1,24	1,89	1,35	0,000	
		12. недеља		1,26	0,26	0,98	1,50	1,26	0,000	

Легенда: \bar{x} - средња вредност; SD- стандардна девијација; Min- минимум; Max- максимум;
 HOL- концентрација укупног холестерола, mmol/L; LDL- концентрација липопротеина ниске густине,
 mmol/L; HDL- концентрација липопротеина високе густине, mmol/L; TG- концентрација триглицерида,
 mmol/L;

MAT+DRV- испитивана група дарунавира; K-DRV- контролна група дарунавира

Испитивани параметри у испитиваној групи прате нормалну расподелу, док у контролној групи не прате нормалну расподелу.

Табела 5.26. Параметри метаболизма липида у групама ралтегравира.

група	параметар	време		\bar{x}	SD	Min	Max	медијана	P вредност	
		испити	вања							
MAT+RAL	HOL	0. недеља		3,64	0,74	2,87	4,70	3,71	0,474	
		12. недеља		4,60	1,02	3,52	5,99	4,45	0,614	
	LDL	0. недеља		2,14	0,70	1,36	3,22	2,10	0,563	
		12. недеља		3,13	1,03	1,86	4,25	3,21	0,918	
	HDL	0. недеља		0,85	0,25	0,59	1,26	0,86	0,589	
		12. недеља		0,96	0,22	0,70	1,21	0,97	0,921	
	TG	0. недеља		1,73	1,07	0,58	3,35	1,33	0,937	
		12. недеља		1,51	0,22	1,27	1,80	1,49	0,697	
	K-RAL	HOL	0. недеља		6,24	2,09	4,30	10,30	5,69	0,682
			12. недеља		4,76	0,79	3,80	5,71	5,06	0,650
LDL		0. недеља		3,30	0,77	2,54	4,30	3,26	0,894	
		12. недеља		2,88	0,45	2,28	3,29	2,97	0,785	
HDL		0. недеља		1,15	0,37	0,70	1,79	1,14	0,334	
		12. недеља		1,09	0,17	0,84	1,21	1,15	0,238	
TG		0. недеља		2,90	2,67	1,17	8,30	1,93	0,851	
		12. недеља		1,89	1,03	1,30	3,44	1,41	0,163	

Легенда: \bar{x} - средња вредност; SD- стандардна девијација; Min- минимум; Max- максимум;
 HOL- концентрација укупног холестерола, mmol/L; LDL- концентрација липопротеина ниске густине,
 mmol/L; HDL- концентрација липопротеина високе густине, mmol/L; TG- концентрација триглицерида,
 mmol/L;

MAT+RAL- испитивана група ралтегравира; K-RAL- контролна група ралтегравира

Сви испитивани параметри прате нормалну расподелу.

Извршено је поређење вредности параметара метаболизма липида на почетку и на крају периода испитивања, и приказ резултата је дат у Табели 5.27.

Табела 5.27. Тестирање статистичке значајности разлике параметара метаболизма липида на почетку и на крају периода испитивања.

група	параметар	тест група 1		тест група 2		p вредност
		0. недеља ($\bar{x} \pm SD$)	12. недеља ($\bar{x} \pm SD$)			
MAT+EFV	HOL	5,51±0,87	5,27±1,06			0,493 ^a
	LDL	3,14±0,73	4,20±3,48			0,386 ^a
	HDL	1,17±0,39	1,06±0,26			0,376 ^a
	TG	2,26±1,91	2,43±2,16			0,161 ^b
K-EFV	HOL	5,62±0,64	5,01±1,15			0,193 ^a
	LDL	3,54±0,91	2,96±0,99			0,486 ^a
	HDL	1,30±0,12	1,46±0,37			0,426 ^a
	TG	1,81±0,93	1,19±0,59			0,086 ^a
MAT+DRV	HOL	5,58±1,36	4,80±0,43			0,702 ^a
	LDL	3,43±1,02	3,45±1,67			0,730 ^a
	HDL	1,06±0,24	0,99±0,33			0,705 ^a
	TG	3,52±6,00	1,75±0,50			0,868 ^a
K-DRV	HOL	4,68±1,39	5,57±1,33			0,655 ^b
	LDL	3,30±1,69	3,23±0,90			0,317 ^b
	HDL	0,70±0,19	1,22±0,33			0,180 ^b
	TG	1,49±0,34	1,26±0,26			0,655 ^b
MAT+RAL	HOL	3,64±0,74	4,60±1,02			0,310 ^a
	LDL	2,14±0,70	3,13±1,03			0,198 ^a
	HDL	0,85±0,25	0,96±0,22			0,452 ^a
	TG	1,73±1,07	1,51±0,22			0,542 ^a
K-RAL	HOL	6,24±2,09	4,76±0,79			0,044^a
	LDL	3,30±0,77	2,88±0,45			0,300 ^a
	HDL	1,15±0,37	1,09±0,17			0,416 ^a
	TG	2,90±2,67	1,89±1,03			0,899 ^a

^a Т-тест зависних узорака^b Вилкоксонов тест пароваЛегенда: \bar{x} - средња вредност; SD- стандардна девијација; HOL- концентрација укупног холестерола, mmol/L;

LDL- концентрација липопротеина ниске густине, mmol/L; HDL- концентрација липопротеина високе густине, mmol/L; TG- концентрација триглицерида, mmol/L;

MAT+EFV- испитивана група ефавиренза; K-EFV- контролна група ефавиренза; MAT+DRV- испитивана група дарунавира; K-DRV- контролна група дарунавира; MAT+RAL- испитивана група ралтегравира; K-RAL- контролна група ралтегравира

Показана је статистички значајна разлика између нивоа НОЛ-а на почетку и на крају тестирања у контролној групи ралтегравира.

Извршено је поређење вредности параметара метаболизма липида између испитиване и контролне групе, и приказ резултата је дат у Табели 5.28.

Табела 5.28. Тестирање статистичке значајности разлике параметара метаболизма липида између испитиване и контролне групе.

време испитивања	параметар	тест група 1 ($\bar{x} \pm SD$)	тест група 2 ($\bar{x} \pm SD$)	p вредност
		MAT+EFV	K-EFV	
0. недеља	HOL	5,51±0,87	5,62±0,64	0,793 ^a
	LDL	3,14±0,73	3,54±0,91	0,367 ^a
	HDL	1,17±0,39	1,30±0,12	0,315 ^a
	TG	2,26±1,91	1,81±0,93	0,604 ^a
12. недеља	HOL	5,27±1,06	5,01±1,15	0,669 ^a
	LDL	4,20±3,48	2,96±0,99	0,456 ^a
	HDL	1,06±0,26	1,46±0,37	0,028^a
	TG	2,43±2,16	1,19±0,59	0,178 ^b
		MAT+DRV	K-DRV	
0. недеља	HOL	5,58±1,36	4,68±1,39	0,186 ^b
	LDL	3,43±1,02	3,30±1,69	0,499 ^b
	HDL	1,06±0,24	0,70±0,19	0,510 ^b
	TG	3,52±6,00	1,49±0,34	0,815 ^b
12. недеља	HOL	4,80±0,43	5,57±1,33	0,425 ^b
	LDL	3,45±1,67	3,23±0,90	0,770 ^b
	HDL	0,99±0,33	1,22±0,33	0,305 ^b
	TG	1,75±0,50	1,26±0,26	0,121 ^b
		MAT+RAL	K-RAL	
0. недеља	HOL	3,64±0,74	6,24±2,09	0,028^a
	LDL	2,14±0,70	3,30±0,77	0,037^a
	HDL	0,85±0,25	1,15±0,37	0,174 ^a
	TG	1,73±1,07	2,90±2,67	0,386 ^a
12. недеља	HOL	4,60±1,02	4,76±0,79	0,797 ^a
	LDL	3,13±1,03	2,88±0,45	0,668 ^a
	HDL	0,96±0,22	1,09±0,17	0,405 ^a
	TG	1,51±0,22	1,89±1,03	0,503 ^a

^a Т-тест независних узорака^b Мен-Витни У-тестЛегенда: \bar{x} - средња вредност; SD- стандардна девијација; HOL- концентрација укупног холестерола, mmol/L;

LDL- концентрација липопротеина ниске густине, mmol/L; HDL- концентрација липопротеина високе густине, mmol/L; TG- концентрација триглицерида, mmol/L;

MAT+EFV- испитивана група ефавиренза; K-EFV- контролна група ефавиренза; MAT+DRV- испитивана група дарунавира; K-DRV- контролна група дарунавира; MAT+RAL- испитивана група ралтегравира; K-RAL- контролна група ралтегравира

Показана је статистички значајна разлика између нивоа HDL-а испитиване и контролне групе ефавиренза на крају тестирања. Поређењем испитиване и контролне групе

ралтегравира показана је статистички значајна разлика између нивоа HOL-а и LDL-а на почетку тестирања.

Извршено је међусобно поређење свих испитиваних и свих контролних група. Резултати су показани у Табели 5.29.

Табела 5.29. Тестирање статистичке значајности међусобне разлике параметара метаболизма липида између испитиваних група и између контролних група.

време испитивања	параметар	тест група 1 ($\bar{x} \pm SD$)	тест група 2 ($\bar{x} \pm SD$)	тест група 3 ($\bar{x} \pm SD$)	<i>p</i> вредност
0. недеља		MAT+EFV	MAT+DRV	MAT+RAL	
	HOL	5,51±0,87	5,58±1,36	3,64±0,74	0,006^a
	LDL	3,14±0,73	3,43±1,02	2,14±0,70	0,035^a
	HDL	1,17±0,39	1,06±0,24	0,85±0,25	0,198 ^a
	TG	2,26±1,91	3,52±6,00	1,73±1,07	0,670 ^a
		K-EFV	K-DRV	K-RAL	
	HOL	5,62±0,64	5,57±1,33	6,24±2,09	0,421 ^b
	LDL	3,54±0,91	3,23±0,90	3,30±0,77	0,895 ^b
	HDL	1,30±0,12	1,22±0,33	1,15±0,37	0,037 ^b
	TG	1,81±0,93	1,26±0,26	2,90±2,67	0,651 ^b
12. недеља		MAT+EFV	MAT+DRV	MAT+RAL	
	HOL	5,27±1,06	4,80±0,43	4,60±1,02	0,369 ^a
	LDL	4,20±3,48	3,45±1,67	3,13±1,03	0,751 ^a
	HDL	1,06±0,26	0,99±0,33	0,96±0,22	0,819 ^a
	TG	2,43±2,16	1,75±0,50	1,51±0,22	0,683 ^b
		K-EFV	K-DRV	K-RAL	
	HOL	5,01±1,15	5,57±1,33	4,76±0,79	0,679 ^b
	LDL	2,96±0,99	3,23±0,90	2,88±0,45	0,851 ^b
	HDL	1,46±0,37	1,22±0,33	1,09±0,17	0,228 ^b
	TG	1,19±0,59	1,26±0,26	1,89±1,03	0,297 ^b

^a анализа варијансе

^b Краскал-Волис тест

Легенда: \bar{x} - средња вредност; SD- стандардна девијација; HOL- концентрација укупног холестерола, mmol/L; LDL- концентрација липопротеина ниске густине, mmol/L; HDL- концентрација липопротеина високе густине, mmol/L; TG- концентрација триглицерида, mmol/L; MAT+EFV- испитивана група ефавиренза; K-EFV- контролна група ефавиренза; MAT+DRV- испитивана група дарунавира; K-DRV- контролна група дарунавира; MAT+RAL- испитивана група ралтегравира; K-RAL- контролна група ралтегравира

Показана је статистички значајна разлика између нивоа HOL-а и LDL-а испитиваних група на почетку тестирања.

5.10.3 Одређивање параметара функције јетре

Резултати испитаних параметара функције јетре приказани су у Табелама 5.30, 5.31 и 5.32.

Табела 5.30. Параметри функције јетре у групама ефавиренза.

група	пара- метар	време испитивања	\bar{x}	SD	Min	Max	медијана	<i>p</i> вредност
MAT+EFV	AST	0. недеља	23,08	12,05	14	58	18,50	0,001
		12. недеља	38,80	33,17	15	119	25,50	0,002
	ALT	0. недеља	28,58	20,38	12	84	22	0,004
		12. недеља	57,70	65,09	20	232	31,50	0,000
	ALP	0. недеља	91,10	32,74	48	166	93	0,457
		12. недеља	83,83	31,02	56	143	74	0,983
K-EFV	AST	0. недеља	24,50	9,31	16	41	22,50	0,665
		12. недеља	23,20	2,68	21	27	22	0,201
	ALT	0. недеља	31,33	20,33	16	68	22,50	0,279
		12. недеља	29	11,64	16	47	27	0,788
	ALP	0. недеља	89,60	37,33	25	114	104	0,015
		12. недеља	104	24,92	75	129	113	0,304

Легенда: \bar{x} - средња вредност; SD- стандардна девијација; Min- минимум; Max- максимум;
 AST- концентрација аспартат аминотрансферазе, U/L; ALT- концентрација аланин аминотрансферазе, U/L;
 концентрација алкалне фосфатазе, U/L;
 MAT+EFV- испитивана група ефавиренза; K-EFV- контролна група ефавиренза

Показано је да већина параметара прати нормалну расподелу. Параметри који нису пратили нормалну расподелу су: у групи MAT+EFV- нивои AST и ALT и на почетку и на крају тестирања и у групи K-EFV- нивои ALP на почетку тестирања.

Табела 5.31. Параметри функције јетре у групама дарунавира.

група	пара- метар	време испитивања	\bar{x}	SD	Min	Max	медијана	<i>P</i> вредност
MAT+DRV	AST	0. недеља	20,36	5,35	13	30	20	0,205
		12. недеља	17,17	5,38	7	22	18	0,101
	ALT	0. недеља	27,64	9,11	11	43	28	0,979
		12. недеља	23,17	10,28	10	37	26	0,391
	ALP	0. недеља	86,50	43,79	42	162	80	0,058
		12. недеља	75,50	24,24	49	101	74	0,000
K-DRV	AST	0. недеља	23,55	7,84	15	34	22,60	0,116
		12. недеља	41,17	17,64	30	62	32	0,108
	ALT	0. недеља	29,43	18,42	12	55	25,35	0,401
		12. недеља	46,33	25,74	30	76	33	0,111
	ALP	0. недеља					/#	
		12. недеља					/#	

анализа није спроведена услед квара аналитичког уређаја

Легенда: \bar{x} - средња вредност; SD- стандардна девијација; Min- минимум; Max- максимум;
 AST- концентрација аспартат аминотрансферазе, U/L; ALT- концентрација аланин аминотрансферазе, U/L;
 концентрација алкалне фосфатазе, U/L;
 MAT+DRV - испитивана група дарунавира; K-DRV- контролна група дарунавира

Показано је да већина параметара прати нормалну расподелу. Параметар који није пратио нормалну расподелу је ниво ALP на крају тестирања у испитиваној групи.

Табела 5.32. Параметри функције јетре у групама ралтегравира.

група	пара- метар	време испитивања	\bar{x}	SD	Min	Max	медијана	<i>p</i> вредност
MAT+RAL	AST	0. недеља	28,40	9,55	18	40	32	0,575
		12. недеља	31	5,89	25	37	31	0,348
	ALT	0. недеља	41	22,39	29	81	32	0,006
		12. недеља	39	12,67	28	54	37	0,316
	ALP	0. недеља	83,25	16	68	99	83	0,253
		12. недеља	94	22,92	60	110	103	0,210
K-RAL	AST	0. недеља	22,17	4,79	18	31	20,50	0,196
		12. недеља	24,40	7,70	18	35	21	0,193
	ALT	0. недеља	28,67	4,08	24	34	28	0,516
		12. недеља	34,40	15,79	22	61	32	0,114
	ALP	0. недеља	72,60	17,26	58	100	71	0,281
		12. недеља	85	17,46	61	104	82	0,676

Легенда: \bar{x} - средња вредност; SD- стандардна девијација; Min- минимум; Max- максимум;
 AST- концентрација аспартат аминотрансферазе, U/L; ALT- концентрација аланин аминотрансферазе, U/L;
 концентрација алкалне фосфатазе, U/L;

MAT+ RAL - испитивана група ралтегравира; K-RAL - контролна група ралтегравира

Показано је да већина параметара прати нормалну расподелу. Параметар који није пратио нормалну расподелу је ниво ALT на почетку тестирања у испитиваној групи.

Извршено је поређење вредности параметара функције јетре на почетку и на крају периода испитивања, и приказ резултата је дат у Табели 5.33.

Табела 5.33. Тестирање статистичке значајности разлике параметара функције јетре на почетку и на крају периода испитивања.

група	параметар	тест група		p вредност
		1 0. недеља ($\bar{x} \pm SD$)	2 12. недеља ($\bar{x} \pm SD$)	
MAT+EFV	AST	23,08±12,05	38,80±33,17	0,028^a
	ALT	28,58±20,38	57,70±65,09	0,050^a
	ALP	91,10±32,74	83,83±31,02	0,702 ^b
K-EFV	AST	24,50±9,31	23,20±2,68	0,514 ^b
	ALT	31,33±20,33	29±11,64	0,402 ^b
	ALP	89,60±37,33	104±24,92	0,066 ^a
MAT+DRV	AST	20,36±5,35	17,17±5,38	0,508 ^b
	ALT	27,64±9,11	23,17±10,28	0,308 ^b
	ALP	86,50±43,79	75,50±24,24	1,000 ^a
K-DRV	AST	23,55±7,84	41,17±17,64	0,360 ^b
	ALT	29,43±18,42	46,33±25,74	0,634 ^b
	ALP	/	/	#
MAT+RAL	AST	28,40±9,55	31±5,89	1,000 ^b
	ALT	41±22,39	39±12,67	0,731 ^b
	ALP	83,25±16	94±22,92	0,907 ^b
K-RAL	AST	22,17±4,79	24,40±7,70	0,722 ^b
	ALT	28,67±4,08	34,40±15,79	0,587 ^b
	ALP	72,60±17,26	85±17,46	0,042^b

^a Вилкоксонов тест парова

^b Т-тест зависних узорака

није могуће извести тест

Легенда: \bar{x} - средња вредност; SD- стандардна девијација; AST- концентрација аспартат аминотрансферазе, U/L; ALT- концентрација аланин аминотрансферазе, U/L; концентрација алкалне фосфатазе, U/L; MAT+EFV- испитивана група ефавиренза; K-EFV- контролна група ефавиренза; MAT+DRV- испитивана група дарунавира; K-DRV- контролна група дарунавира; MAT+RAL- испитивана група ралтегравира; K-RAL- контролна група ралтегравира

Показана је статистички значајна разлика између нивоа AST и ALT на почетку и на крају тестирања у испитиваној групи ефавиренза. Такође, показана је статистички значајна разлика нивоа ALP на почетку и на крају тестирања у контролној групи ралтегравира.

Извршено је поређење вредности параметара функције јетре између испитиване и контролне групе, и приказ резултата је дат у Табели 5.34.

Табела 5.34. Тестирање статистичке значајности разлике параметара функције јетре између испитиване и контролне групе.

време испитивања	параметар	тест група 1	тест група 2	p вредност
		($\bar{x} \pm SD$)	($\bar{x} \pm SD$)	
		MAT+EFV	K-EFV	
0. недеља	AST	23,08±12,05	24,50±9,31	0,542 ^a
	ALT	28,58±20,38	31,33±20,33	0,778 ^a
	ALP	91,10±32,74	89,60±37,33	0,462 ^a
12. недеља	AST	38,80±33,17	23,20±2,68	0,500 ^a
	ALT	57,70±65,09	29±11,64	0,389 ^a
	ALP	83,83±31,02	104±24,92	0,272 ^b
		MAT+DRV	K-DRV	
0. недеља	AST	20,36±5,35	23,55±7,84	0,381 ^b
	ALT	27,64±9,11	29,43±18,42	0,801 ^b
	ALP	86,50±43,79	/	/ [#]
12. недеља	AST	17,17±5,38	41,17±17,64	0,137 ^b
	ALT	23,17±10,28	46,33±25,74	0,255 ^b
	ALP	75,50±24,24	/	/ [#]
		MAT+RAL	K-RAL	
0. недеља	AST	28,40±9,55	22,17±4,79	0,236 ^b
	ALT	41±22,39	28,67±4,08	0,288 ^b
	ALP	83,25±16	72,60±17,26	0,374 ^b
12. недеља	AST	31±5,89	24,40±7,70	0,202 ^b
	ALT	39±12,67	34,40±15,79	0,651 ^b
	ALP	94±22,92	85±17,46	0,542 ^b

^a Мен-Витни U-тест

^b T-тест независних узорака

[#] није могуће извести тест

Легенда: \bar{x} - средња вредност; SD- стандардна девијација; AST- концентрација аспартат аминотрансферазе, U/L; ALT- концентрација аланин аминотрансферазе, U/L; концентрација алкалне фосфатазе, U/L; MAT+EFV- испитивана група ефавиренза; K-EFV- контролна група ефавиренза; MAT+DRV- испитивана група дарунавира; K-DRV- контролна група дарунавира; MAT+RAL- испитивана група ралтегавира; K-RAL- контролна група ралтегавира

Није показана статистички значајна разлика између тестираних параметара испитиваних и контролних група.

Извршено је међусобно поређење свих испитиваних и свих контролних група. Резултати су показани у Табели 5.35.

Табела 5.35. Тестирање статистичке значајности међусобне разлике параметара функције јетре између испитиваних група и између контролних група.

време испитивања	параметар	тест група 1 ($\bar{x} \pm SD$)	тест група 2 ($\bar{x} \pm SD$)	тест група 3 ($\bar{x} \pm SD$)	p вредност
0. недеља		MAT+EFV	MAT+DRV	MAT+RAL	
	AST	23,08±12,05	20,36±5,35	28,40±9,55	0,228 ^a
	ALT	28,58±20,38	27,64±9,11	41±22,39	0,162 ^a
	ALP	91,10±32,74	86,50±43,79	83,25±16	0,919 ^b
		K-EFV	K-DRV	K-RAL	
	AST	24,50±9,31	23,55±7,84	22,17±4,79	0,865 ^b
	ALT	31,33±20,33	29,43±18,42	28,67±4,08	0,955 ^b
	ALP	89,60±37,33	/	72,60±17,26	#
	12. недеља		MAT+EFV	MAT+DRV	MAT+RAL
AST		38,80±33,17	17,17±5,38	31±5,89	0,042^a
ALT		57,70±65,09	23,17±10,28	39±12,67	0,156 ^a
ALP		83,83±31,02	75,50±24,24	94±22,92	0,247 ^a
		K-EFV	K-DRV	K-RAL	
AST		23,20±2,68	41,17±17,64	24,40±7,70	0,055 ^b
ALT		29±11,64	46,33±25,74	34,40±15,79	0,405 ^b
ALP		104±24,92	/	85±17,46	#

^a Краскал-Волис тест

^b анализа варијансе

није могуће извести тест

Легенда: \bar{x} - средња вредност; SD- стандардна девијација; AST- концентрација аспартат аминотрансферазе, U/L; ALT- концентрација аланин аминотрансферазе, U/L; концентрација алкалне фосфатазе, U/L; MAT+EFV- испитивана група ефавиренза; K-EFV- контролна група ефавиренза; MAT+DRV- испитивана група дарунавира; K-DRV- контролна група дарунавира; MAT+RAL- испитивана група ралтегравира; K-RAL- контролна група ралтегравира

Показана је статистички значајна разлика између нивоа AST испитиваних група на крају тестирања.

5.11. Одређивање показатеља оксидативног стреса и антиоксидативне заштите

5.11.1 Одређивање интензитета липидне пероксидације

Резултати испитаног интензитета липидне пероксидације приказани су у Табели 5.36.

Табела 5.36. Интензитет липидне пероксидације.

група	параметар	време испитивања	\bar{x}	SD	Min	Max	медијана	P вредност
MAT+EFV	TBARS-плазма	0. недеља	2,11	0,67	1,39	3,64	1,89	0,080
		12. недеља	1,42	0,31	0,87	1,85	1,49	0,806
	TBARS-хемолизат	0. недеља	2,61	0,67	2,12	3,66	2,29	0,011
		12. недеља	2,02	0,13	1,78	2,12	2,12	0,020
K-EFV	TBARS-плазма	0. недеља	1,84	0,26	1,59	2,31	1,81	0,273
		12. недеља	2,77	1,39	1,62	5,37	2,32	0,090
	TBARS-хемолизат	0. недеља	2,12	0,27	1,78	2,46	2,12	0,968
		12. недеља	2,67	0,50	1,95	3,15	2,63	0,449
MAT+DRV	TBARS-плазма	0. недеља	1,90	0,42	1,51	3,01	1,85	0,006
		12. недеља	1,67	0,25	1,08	2,00	1,72	0,208
	TBARS-хемолизат	0. недеља	2,41	0,61	1,71	3,15	2,29	0,148
		12. недеља	2,34	0,49	1,68	3,15	2,38	0,796
K-DRV	TBARS-плазма	0. недеља	1,72	0,29	1,49	2,21	1,59	0,146
		12. недеља	2,16	1,02	1,26	3,40	1,64	0,118
	TBARS-хемолизат	0. недеља	2,52	0,85	1,35	3,32	2,89	0,091
		12. недеља	2,69	0,62	1,95	3,49	2,63	0,505
MAT+RAL	TBARS-плазма	0. недеља	1,65	0,47	1,23	2,51	1,59	0,140
		12. недеља	1,59	0,34	1,21	2,23	1,50	0,107
	TBARS-хемолизат	0. недеља	2,38	0,29	2,12	2,63	2,38	0,024
		12. недеља	2,89	0,66	1,95	3,49	3,06	0,414
K-RAL	TBARS-плазма	0. недеља	1,82	0,34	1,33	2,13	1,97	0,304
		12. недеља	2,19	0,27	1,87	2,59	2,13	0,902
	TBARS-хемолизат	0. недеља	2,27	0,43	1,51	2,80	2,29	0,711
		12. недеља	2,24	0,50	1,61	2,97	1,95	0,268

Легенда: \bar{x} - средња вредност; SD- стандардна девијација; Min- минимум; Max- максимум; TBARS-плазма- концентрација продукта липидне пероксидације у плазми, nmol/L; TBARS-хемолизат концентрација продукта липидне пероксидације у хемолизату, nmol/L; MAT+EFV- испитивана група ефавиренза; K-EFV- контролна група ефавиренза; MAT+DRV- испитивана група дарунавира; K-DRV- контролна група дарунавира; MAT+RAL- испитивана група ралтегавира; K-RAL- контролна група ралтегавира

Показано је да већина параметара прати нормалну расподелу. Параметри који нису пратили нормалну расподелу су: у групи MAT+EFV- нивои TBARS у хемолизату и на почетку и на крају тестирања; у групи MAT+DRV- нивои TBARS у плазми на почетку тестирања; и у групи MAT+RAL нивои TBARS у хемолизату на почетку тестирања.

Пример хроматограма анализираних хемолизата дат је у Прилогу 8.

Извршено је поређење вредности интензитета липидне пероксидације на почетку и на крају периода испитивања, и приказ резултата је дат у Табели 5.37.

Табела 5.37. Тестирање статистичке значајности разлике интензитета липидне пероксидације на почетку и на крају периода испитивања.

група	параметар	тест група 1	тест група 2	p вредност
		0. недеља ($\bar{x} \pm SD$)	12. недеља ($\bar{x} \pm SD$)	
MAT+EFV	TBARS- плазма	2,11±0,67	1,42±0,31	0,018^a
	TBARS- хемолизат	2,61±0,67	2,02±0,13	0,028^b
K-EFV	TBARS- плазма	1,84±0,26	2,77±1,39	0,151 ^a
	TBARS- хемолизат	2,12±0,27	2,67±0,50	0,045 ^a
MAT+DRV	TBARS- плазма	1,90±0,42	1,67±0,25	0,026^b
	TBARS- хемолизат	2,41±0,61	2,34±0,49	0,676 ^a
K-DRV	TBARS- плазма	1,72±0,29	2,16±1,02	0,344 ^a
	TBARS- хемолизат	2,52±0,85	2,69±0,62	0,739 ^a
MAT+RAL	TBARS- плазма	1,65±0,47	1,59±0,34	0,460 ^a
	TBARS- хемолизат	2,38±0,29	2,89±0,66	0,207 ^a
K-RAL	TBARS- плазма	1,82±0,34	2,19±0,27	0,088 ^a
	TBARS- хемолизат	2,27±0,43	2,24±0,50	0,865 ^b

^a Т-тест зависних узорака

^b Вилкоксон тест парова

Легенда: \bar{x} - средња вредност; SD- стандардна девијација; TBARS-плазма- концентрација продуката липидне пероксидације у плазми, nmol/L; TBARS-хемолизат- концентрација продуката липидне пероксидације у хемолизату, nmol/L;

MAT+EFV- испитивана група ефавиренза; K-EFV- контролна група ефавиренза; MAT+DRV- испитивана група дарунавира; K-DRV- контролна група дарунавира; MAT+RAL- испитивана група ралтегравира; K-RAL- контролна група ралтегравира

Показана је статистички значајна разлика између нивоа TBARS (и у плазми, и у хемолизату) на почетку и на крају тестирања у испитиваној групи ефавиренза. Такође, показана је

статистички значајна разлика нивоа TBARS у плазми на почетку и на крају тестирања у испитиваној групи дарунавира.

Извршено је поређење вредности интензитета липидне пероксидације између испитиване и контролне групе, и приказ резултата је дат у Табели 5.38.

Табела 5.38. Тестирање статистичке значајности разлике интензитета липидне пероксидације између испитиване и контролне групе.

време испитивања	параметар	тест група 1	тест група 2	p вредност
		($\bar{x} \pm SD$)	($\bar{x} \pm SD$)	
		MAT+EFV	K-EFV	
0. недеља	TBARS- плазма	2,11±0,67	1,84±0,26	0,362 ^a
	TBARS- хемолизат	2,61±0,67	2,12±0,27	0,184 ^b
12. недеља	TBARS- плазма	1,42±0,31	2,77±1,39	0,064 ^a
	TBARS- хемолизат	2,02±0,13	2,67±0,50	0,037^b
		MAT+DRV	K-DRV	
0. недеља	TBARS- плазма	1,90±0,42	1,72±0,29	0,364 ^b
	TBARS- хемолизат	2,41±0,61	2,52±0,85	0,780 ^a
12. недеља	TBARS- плазма	1,67±0,25	2,16±1,02	0,343 ^a
	TBARS- хемолизат	2,34±0,49	2,69±0,62	0,257 ^a
		MAT+RAL	K-RAL	
0. недеља	TBARS- плазма	1,65±0,47	1,82±0,34	0,515 ^a
	TBARS- хемолизат	2,38±0,29	2,27±0,43	0,848 ^b
12. недеља	TBARS- плазма	1,59±0,34	2,19±0,27	0,011^a
	TBARS- хемолизат	2,89±0,66	2,24±0,50	0,098 ^a

^a Т-тест независних узорака

^b Мен-Витни У-тест

Легенда: \bar{x} - средња вредност; SD- стандардна девијација; TBARS-плазма- концентрација продуката липидне пероксидације у плазми, nmol/L; TBARS-хемолизат- концентрација продуката липидне пероксидације у хемолизату, nmol/L;

MAT+EFV- испитивана група ефавиренза; K-EFV- контролна група ефавиренза; MAT+DRV- испитивана група дарунавира; K-DRV- контролна група дарунавира; MAT+RAL- испитивана група ралтегравира; K-RAL- контролна група ралтегравира

Показана је статистички значајна разлика између нивоа TBARS у хемолизату испитиване и контролне групе ефавиренза на крају тестирања. Поређењем испитиване и контролне групе ралтегравира показана је статистички значајна разлика између нивоа TBARS у плазми на крају тестирања.

Извршено је међусобно поређење свих испитиваних и свих контролних група. Резултати су показани у Табели 5.39.

Табела 5.39. Тестирање статистичке значајности међусобне разлике интензитета липидне пероксидације између испитиваних група и између контролних група.

време испитивања	параметар	тест група 1	тест група 2	тест група 3	p вредност
		($\bar{x} \pm SD$)	($\bar{x} \pm SD$)	($\bar{x} \pm SD$)	
0. недеља		MAT+EFV	MAT+DRV	MAT+RAL	
	ТВАРS-плазма	2,11±0,67	1,90±0,42	1,65±0,47	0,174 ^a
	ТВАРS-хемолизат	2,61±0,67	2,41±0,61	2,38±0,29	0,756 ^a
		K-EFV	K-DRV	K-RAL	
	ТВАРS-плазма	1,84±0,26	1,72±0,29	1,82±0,34	0,801 ^b
	ТВАРS-хемолизат	2,12±0,27	2,52±0,85	2,27±0,43	0,524 ^b
12. недеља		MAT+EFV	MAT+DRV	MAT+RAL	
	ТВАРS-плазма	1,42±0,31	1,67±0,25	1,59±0,34	0,177 ^b
	ТВАРS-хемолизат	2,02±0,13	2,34±0,49	2,89±0,66	0,102 ^a
		K-EFV	K-DRV	K-RAL	
	ТВАРS-плазма	2,77±1,39	2,16±1,02	2,19±0,27	0,563 ^b
	ТВАРS-хемолизат	2,67±0,50	2,69±0,62	2,24±0,50	0,280 ^b

^a Краскал-Волис тест

^b анализа варијансе

Легенда: \bar{x} - средња вредност; SD- стандардна девијација; ТВАРS-плазма- концентрација продуката липидне пероксидације у плазми, nmol/L; ТВАРS-хемолизат- концентрација продуката липидне пероксидације у хемолизату, nmol/L;

MAT+EFV- испитивана група ефавиренза; K-EFV- контролна група ефавиренза; MAT+DRV- испитивана група дарунавира; K-DRV- контролна група дарунавира; MAT+RAL- испитивана група ралтегравира; K-RAL- контролна група ралтегравира

Није пронађена статистички значајна разлика између испитиваних нити између контролних група.

5.11.2 Одређивање активности антиоксидативних ензима

Резултати испитаних параметара активности антиоксидативних ензима приказани су у Табели 5.40.

Табела 5.40. Параметри активности антиоксидативних ензима.

група	пара- метар	време испитивања	\bar{x}	SD	Min	Max	медијана	<i>P</i> вредност
MAT+ EFV	CAT	0. недеља	32,70	8,96	21,78	48,51	32,09	0,823
		12. недеља	34,77	4,99	27,02	42,01	35,52	0,829
	GST	0. недеља	17,57	6,80	8,78	28,22	15,95	0,679
		12. недеља	26,40	6,99	13,90	34,36	29,05	0,364
K-EFV	CAT	0. недеља	39,69	8,43	30,42	52,62	38,10	0,802
		12. недеља	37,27	4,49	32,09	43,41	37,52	0,897
	GST	0. недеља	21,20	3,77	17,49	26,50	22,02	0,394
		12. недеља	18,93	6,71	13,82	30,70	16,78	0,018
MAT+ DRV	CAT	0. недеља	37,06	3,60	32,17	42,50	37,08	0,965
		12. недеља	38,50	6,44	31,82	50,20	36,79	0,360
	GST	0. недеља	22,49	8,70	14,68	32,46	21,41	0,325
		12. недеља	30,53	5,41	23,93	35,36	31,42	0,431
K- DRV	CAT	0. недеља	35,54	10,42	23,51	41,99	41,11	0,080
		12. недеља	42,66	5,39	38,13	48,62	41,22	0,555
	GST	0. недеља	18,71	12,92	4,96	30,61	20,55	0,763
		12. недеља	24,79	1,95	23,11	26,94	24,34	0,608
MAT+ RAL	CAT	0. недеља	34,49	3,35	29,87	37,67	35,22	0,624
		12. недеља	40,56	6,91	33,85	48,19	40,10	0,412
	GST	0. недеља	26,03	9,89	12,24	34,09	28,90	0,360
		12. недеља	26,62	7,82	15,96	33,90	28,31	0,638
K-RAL	CAT	0. недеља	35,43	6,30	26,11	42,59	35,28	0,862
		12. недеља	33,99	4,07	28,86	39,22	33,91	0,975
	GST	0. недеља	20,18	6,70	13,71	29,47	18,77	0,614
		12. недеља	22,13	8,54	14,06	33,04	20,72	0,660

Легенда: \bar{x} - средња вредност; SD- стандардна девијација; Min- минимум; Max- максимум;
CAT- активност каталазе, U/g хемоглобина; GST- активност глутатион-S-трансферазе, nmol коњулата/min/g хемоглобина;

MAT+EFV- испитивана група ефавиренза; K-EFV- контролна група ефавиренза; MAT+DRV- испитивана група дарунавира; K-DRV- контролна група дарунавира; MAT+RAL- испитивана група ралтегравира; K-RAL- контролна група ралтегравира

Показано је да већина параметара прати нормалну расподелу. Једини параметар који није пратио нормалну расподелу је активност GST на крају тестирања у групи K-EFV.

Извршено је поређење вредности параметара активности антиоксидативних ензима на почетку и на крају периода испитивања, и приказ је дат у Табели 5.41.

Табела 5.41. Тестирање статистичке значајности разлике параметара активности антиоксидативних ензима на почетку и на крају периода испитивања.

група	параметар	тест група 1	тест група 2	p вредност
		0. недеља ($\bar{x} \pm SD$)	12. недеља ($\bar{x} \pm SD$)	
MAT+EFV	CAT	32,70±8,96	34,77±4,99	0,291 ^a
	GST	17,57±6,80	26,40±6,99	0,009^a
K-EFV	CAT	39,69±8,43	37,27±4,49	0,508 ^a
	GST	21,20±3,77	18,93±6,71	0,225 ^b
MAT+DRV	CAT	37,06±3,60	38,50±6,44	0,605 ^a
	GST	22,49±8,70	30,53±5,41	0,152 ^a
K-DRV	CAT	35,54±10,42	42,66±5,39	0,513 ^a
	GST	18,71±12,92	24,79±1,95	0,552 ^a
MAT+RAL	CAT	34,49±3,35	40,56±6,91	0,291 ^a
	GST	26,03±9,89	26,62±7,82	0,632 ^a
K-RAL	CAT	35,43±6,30	33,99±4,07	0,695 ^a
	GST	20,18±6,70	22,13±8,54	0,770 ^a

^a Т-тест зависних узорака

^b Вилкоксон тест парова

Легенда: \bar{x} - средња вредност; SD- стандардна девијација; CAT- активност каталазе, U/g хемоглобина; GST- активност глутатион-S-трансферазе, nmol конјугата/min/g хемоглобина;

MAT+EFV- испитивана група ефавиренза; K-EFV- контролна група ефавиренза; MAT+DRV- испитивана група дарунавира; K-DRV- контролна група дарунавира; MAT+RAL- испитивана група ралтегравира; K-RAL- контролна група ралтегравира

Показана је статистички значајна разлика између нивоа активности GST на почетку и на крају тестирања у испитиваној групи ефавиренза.

Извршено је поређење вредности параметара активности антиоксидативних ензима између испитиване и контролне групе, и приказ резултата је дат у Табели 5.42.

Табела 5.42. Тестирање статистичке значајности разлике параметара активности антиоксидативних ензима између испитиване и контролне групе.

време испитивања	параметар	тест група 1 ($\bar{x} \pm SD$)	тест група 2 ($\bar{x} \pm SD$)	<i>p</i> вредност
		MAT+EFV	K-EFV	
0. недеља	CAT	32,70±8,96	39,69±8,43	0,190 ^a
	GST	17,57±6,80	21,20±3,77	0,302 ^a
12. недеља	CAT	34,77±4,99	37,27±4,49	0,380 ^a
	GST	26,40±6,99	18,93±6,71	0,093 ^b
		MAT+DRV	K-DRV	
0. недеља	CAT	37,06±3,60	35,54±10,42	0,727 ^a
	GST	22,49±8,70	18,71±12,92	0,660 ^a
12. недеља	CAT	38,50±6,44	42,66±5,39	0,359 ^a
	GST	30,53±5,41	24,79±1,95	0,123 ^a
		MAT+RAL	K-RAL	
0. недеља	CAT	34,49±3,35	35,43±6,30	0,797 ^a
	GST	26,03±9,89	20,18±6,70	0,365 ^a
12. недеља	CAT	40,56±6,91	33,99±4,07	0,117 ^a
	GST	26,62±7,82	22,13±8,54	0,468 ^a

^a Т-тест независних узорака^b Мен-Витни У-тест

Легенда: \bar{x} - средња вредност; SD- стандардна девијација; CAT- активност каталазе, U/g хемоглобина; GST- активност глутатион-S-трансферазе, nmol конјугата/min/g хемоглобина;

MAT+EFV- испитивана група ефавиренза; K-EFV- контролна група ефавиренза; MAT+DRV- испитивана група дарунавира; K-DRV- контролна група дарунавира; MAT+RAL- испитивана група ралтегавира; K-RAL- контролна група ралтегавира

Није пронађена статистички значајна разлика између испитиваних и контролних група.

Извршено је међусобно поређење свих испитиваних и свих контролних група. Резултати су показани у Табели 5.43.

Табела 5.43. Тестирање статистичке значајности међусобне разлике параметара активности антиоксидативних ензима између ипитиваних група и између контролних група.

време испитивања	параметар	тест група 1 ($\bar{x} \pm SD$)	тест група 2 ($\bar{x} \pm SD$)	тест група 3 ($\bar{x} \pm SD$)	<i>p</i> вредност
0. недеља		MAT+EFV	MAT+DRV	MAT+RAL	
	CAT	32,70±8,96	37,06±3,60	34,49±3,35	0,449 ^a
	GST	17,57±6,80	22,49±8,70	26,03±9,89	0,245 ^a
		K-EFV	K-DRV	K-RAL	
	CAT	39,69±8,43	35,54±10,42	35,43±6,30	0,671 ^a
	GST	21,20±3,77	18,71±12,92	20,18±6,70	0,906 ^a
12. недеља		MAT+EFV	MAT+DRV	MAT+RAL	
	CAT	34,77±4,99	38,50±6,44	40,56±6,91	0,260 ^a
	GST	26,40±6,99	30,53±5,41	26,62±7,82	0,604 ^a
		K-EFV	K-DRV	K-RAL	
	CAT	37,27±4,49	42,66±5,39	33,99±4,07	0,074 ^a
	GST	18,93±6,71	24,79±1,95	22,13±8,54	0,424 ^b

^a анализа варијансе

^b Краскал Волис тест

Легенда: \bar{x} - средња вредност; SD- стандардна девијација; CAT- активност каталазе, U/g хемоглобина; GST- активност глутатион-S-трансферазе, pmol конјугата/min/g хемоглобина;

MAT+EFV- испитивана група ефавиренза; K-EFV- контролна група ефавиренза; MAT+DRV- испитивана група дарунавира; K-DRV- контролна група дарунавира; MAT+RAL- испитивана група ралтегравира; K-RAL- контролна група ралтегравира

Није пронађена статистички значајна разлика између испитиваних нити између контролних група.

5.12. Антропометрија

Резултати испитаних параметара антропометрије приказани су у Табелама 5.44, 5.45 и 5.46.

Табела 5.44. Параметри антропометрије у групама ефавиренза.

група	параметар	време мерења	\bar{x}	SD	Min	Max	медијана	<i>P</i> вредност
MAT + EFV	телесна висина	/	178,33	7,24	165	190	179	0,968
	телесна маса	0. недеља	85,67	13,32	71	112	85,50	0,291
		12. недеља	87,50	13,28	70	110	89	0,504
	BMI	0. недеља	26,91	3,65	21,67	34,57	27,14	0,611
		12. недеља	27,49	3,69	22,59	33,95	28,17	0,225
	обим струка	0. недеља	101	8,25	90	118	100,50	0,736
		12. недеља	101,50	7,86	90	117	101	0,874
	систолни притисак	0. недеља	125	11,87	105	140	130	0,201
		12. недеља	125,83	11,45	110	140	125	0,128
	дијастолни притисак	0. недеља	80	7,38	70	90	80	0,020
12. недеља		80,83	10,84	70	100	80	0,022	
K-EFV	телесна висина	/	183	7,48	175	195	180	0,429
	телесна маса	0. недеља	80,71	15,66	70	115	75	0,003
		12. недеља	81,57	15,34	70	115	75	0,005
	BMI	0. недеља	24,10	4,12	18,41	31,86	23,15	0,368
		12. недеља	24,33	3,91	19,72	31,86	23,15	0,204
	обим струка	0. недеља	95	13,51	80	120	96	0,406
		12. недеља	95,29	10,87	81	114	97	0,831
	систолни притисак	0. недеља	125,71	11,34	110	140	120	0,262
		12. недеља	125,71	11,34	110	140	120	0,262
	дијастолни притисак	0. недеља	82,86	9,51	70	100	80	0,183
12. недеља		78,57	8,99	70	90	80	0,062	

Легенда: \bar{x} - средња вредност; SD- стандардна девијација; Min- минимум; Max- максимум; телесна висина, cm; телесна маса, kg; BMI- индекс телесне масе, kg/m²; обим струка, cm; систолни притисак, mmHg; дијастолни притисак, mmHg;

MAT+EFV- испитивана група ефавиренза; K-EFV- контролна група ефавиренза

Показано је да већина параметара прати нормалну расподелу. Параметри који нису пратили нормалну расподелу су: дијастолни притисак и на почетку и на крају тестирања у испитиваној групи и телесна маса и на почетку и на крају тестирања у контролној групи.

Табела 5.45. Параметри антропометрије у групама дарунавира.

група	параметар	време мерења	\bar{x}	SD	Min	Max	медијана	<i>P</i> вредност	
MAT+ DRV	телесна висина	/	179,62	5,95	168	190	180	0,996	
	телесна маса	0. недеља	83,92	11,78	58	100	85	0,683	
		12. недеља	84,62	12,05	60	100	84	0,468	
	BMI	0. недеља	26,05	3,83	18,31	32,00	26,20	0,928	
		12. недеља	26,26	3,88	18,94	32,65	25,88	0,733	
	обим струка	0. недеља	96,69	10,70	75	114	95	0,965	
		12. недеља	96,62	11,72	75	115	95	0,916	
	сistolни притисак	0. недеља	123,08	11,28	100	140	120	0,612	
		12. недеља	118,46	9,87	100	140	120	0,089	
	дијастолни притисак	0. недеља	78,85	7,68	70	90	80	0,024	
		12. недеља	77,69	7,25	70	90	80	0,009	
	K-DRV	телесна висина	/	177,67	10,59	160	187	181,50	0,232
		телесна маса	0. недеља	84,83	20,00	63	115	82	0,734
			12. недеља	85,33	19,41	63	114	84	0,780
BMI		0. недеља	26,55	3,71	23,18	32,89	25,29	0,287	
		12. недеља	26,81	3,44	23,18	32,60	25,49	0,349	
обим струка		0. недеља	93,50	16,34	79	122	89	0,197	
		12. недеља	93,50	15,24	78	120	91,50	0,500	
сistolни притисак		0. недеља	125	13,78	110	150	120	0,178	
		12. недеља	120	6,32	110	130	120	0,101	
дијастолни притисак		0. недеља	81,67	9,83	70	100	80	0,031	
		12. недеља	76,67	5,16	70	80	80	0,001	

Легенда: \bar{x} - средња вредност; SD- стандардна девијација; Min- минимум; Max- максимум; телесна висина, cm; телесна маса, kg; BMI- индекс телесне масе, kg/m²; обим струка, cm; систолни притисак, mmHg; дијастолни притисак, mmHg;

MAT+DRV- испитивана група дарунавира; K-DRV- контролна група дарунавира

Показано је да већина параметара прати нормалну расподелу. Параметри који нису пратили нормалну расподелу су дијастолни притисак и на почетку и на крају тестирања, и у испитиваној и у контролној групи.

Табела 5.46. Параметри антропометрије у групама ралтегравира.

група	параметар	време мерења	\bar{x}	SD	Min	Max	медијана	P вредност
MAT+RAL	телесна висина	/	179,33	8,06	165	189	181	0,499
	телесна маса	0. недеља	87	5,59	77	92	87,50	0,195
		12. недеља	87,67	7,37	77	95	88,50	0,271
	BMI	0. недеља	27,20	3,09	22,99	31,59	27,16	0,998
		12. недеља	27,36	2,91	22,99	30,49	27,21	0,523
	обим струка	0. недеља	100,33	10,84	80	112	103	0,140
		12. недеља	99,50	11	80	114	100,50	0,265
	систолни притисак	0. недеља	125	5,48	120	130	125	0,004
		12. недеља	126,67	8,16	120	140	125	0,091
	дијастолни притисак	0. недеља	78,33	7,53	70	90	80	0,212
12. недеља		78,33	7,53	70	90	80	0,212	
K-RAL	телесна висина	/	179,57	3,99	175	187	179	0,520
	телесна маса	0. недеља	91	14,61	79	115	86	0,051
		12. недеља	89	12,67	79	114	82	0,049
	BMI	0. недеља	27,12	3,53	24,11	32,97	27,76	0,186
		12. недеља	27,51	2,84	24,11	32,60	26,47	0,631
	обим струка	0. недеља	105,14	13,26	90	122	97	0,095
		12. недеља	103,57	10,60	91	120	102	0,621
	систолни притисак	0. недеља	132,86	13,80	120	160	130	0,099
		12. недеља	130,71	10,96	120	150	130	0,322
	дијастолни притисак	0. недеља	82,86	4,88	80	90	80	0,000
12. недеља		81,43	6,90	70	90	80	0,099	

Легенда: \bar{x} - средња вредност; SD- стандардна девијација; Min- минимум; Max- максимум; телесна висина, cm; телесна маса, kg; BMI- индекс телесне масе, kg/m²; обим струка, cm; систолни притисак, mmHg; дијастолни притисак, mmHg;

MAT+RAL- испитивана група ралтегравира; K-RAL- контролна група ралтегравира

Показано је да већина параметара прати нормалну расподелу. Параметри који нису пратили нормалну расподелу су систолни притисак на почетку тестирања у испитиваној групи и телесна маса на крају тестирања и дијастолни притисак на почетку тестирања у контролној групи.

Извршено је поређење вредности параметара антропометрије на почетку и на крају периода испитивања, и приказ резултата је дат у Табели 5.47.

Табела 5.47. Тестирање статистичке значајности разлике параметара антропометрије на почетку и на крају периода испитивања.

група	параметар	тест група 1	тест група 2	p вредност
		0. недеља ($\bar{x} \pm SD$)	12. недеља ($\bar{x} \pm SD$)	
MAT+EFV	телесна маса	85,67 ± 13,32	87,50 ± 13,28	0,014^a
	BMI	26,91 ± 3,65	27,49 ± 3,96	0,016^a
	обим струка	101 ± 8,25	101,50 ± 7,86	0,484 ^a
	систолни притисак	125 ± 11,87	125,83 ± 11,45	0,615 ^a
	дијастолни притисак	80 ± 7,38	80,83 ± 10,84	0,705 ^b
K-EFV	телесна маса	80,71 ± 15,66	81,57 ± 15,34	0,357 ^b
	BMI	24,10 ± 4,12	24,33 ± 3,91	0,355 ^a
	обим струка	95 ± 13,51	95,29 ± 10,87	0,867 ^a
	систолни притисак	125,71 ± 11,34	125,71 ± 11,34	1,000 ^a
	дијастолни притисак	82,86 ± 9,51	78,57 ± 8,99	0,200 ^a
MAT+DRV	телесна маса	83,92 ± 11,78	84,62 ± 12,05	0,392 ^a
	BMI	26,05 ± 3,82	26,26 ± 3,88	0,955 ^a
	обим струка	96,69 ± 10,70	96,62 ± 11,72	0,376 ^a
	систолни притисак	123,08 ± 11,28	118,46 ± 9,87	0,060 ^a
	дијастолни притисак	78,85 ± 7,68	77,69 ± 7,25	0,590 ^b
K-DRV	телесна маса	84,83 ± 20,00	85,33 ± 19,41	0,611 ^a
	BMI	26,55 ± 3,71	26,71 ± 3,45	0,597 ^a
	обим струка	93,50 ± 16,34	93,50 ± 15,24	1,000 ^a
	систолни притисак	125 ± 13,78	120 ± 6,32	0,363 ^a
	дијастолни притисак	81,67 ± 9,83	76,67 ± 5,16	0,180 ^b
MAT+RAL	телесна маса	87 ± 5,59	87,67 ± 7,37	0,586 ^a
	BMI	27,20 ± 3,09	27,36 ± 2,91	0,678 ^a
	обим струка	100,33 ± 10,84	99,50 ± 11	0,402 ^a
	систолни притисак	125 ± 5,48	126,67 ± 8,16	0,317 ^b
	дијастолни притисак	78,33 ± 7,53	78,33 ± 7,53	1,000 ^a
K-RAL	телесна маса	91 ± 14,61	89 ± 12,67	0,416 ^b
	BMI	28,12 ± 3,53	27,51 ± 2,84	0,358 ^a
	обим струка	105,14 ± 13,26	103,57 ± 10,60	0,516 ^a
	систолни притисак	132,86 ± 13,80	130,71 ± 10,96	0,356 ^a
	дијастолни притисак	82,86 ± 4,88	81,43 ± 6,90	0,564 ^b

^a Т-тест зависних узорака^b Вилкоксон тест парова

Легенда: \bar{x} - средња вредност; SD- стандардна девијација; телесна висина, cm; телесна маса, kg; BMI- индекс телесне масе, kg/m²; обим струка, cm; систолни притисак, mmHg; дијастолни притисак, mmHg; MAT+EFV- испитивана група ефавиренза; K-EFV- контролна група ефавиренза; MAT+DRV- испитивана група дарунавира; K-DRV- контролна група дарунавира; MAT+RAL- испитивана група ралтегравира; K-RAL- контролна група ралтегравира

Показана је статистички значајна разлика између вредности телесне масе и ВМІ на почетку и на крају тестирања у испитиваној групи ефавиренза.

Извршено је поређење вредности параметара антропометрије између испитиване и контролне групе, и приказ резултата је дат у Табели 5.48.

Табела 5.48. Тестирање статистичке значајности разлике параметара антропометрије између испитиване и контролне групе.

време испитивања	параметар	тест група 1	тест група 2	p вредност
		($\bar{x} \pm SD$)	($\bar{x} \pm SD$)	
		MAT+EFV	K-EFV	
0. недеља	телесна маса	85,67 ± 13,32	80,71 ± 15,66	0,310 ^a
	BMI	26,91 ± 3,65	24,10 ± 4,12	0,140 ^b
	обим струка	101 ± 8,25	95 ± 13,51	0,242 ^b
	систоли притисак	125 ± 11,87	125,71 ± 11,34	0,899 ^b
	дијастоли притисак	80 ± 7,38	82,86 ± 9,51	0,580 ^a
12. недеља	телесна маса	87,50 ± 13,28	81,57 ± 15,34	0,330 ^a
	BMI	27,49 ± 3,69	24,33 ± 3,91	0,096 ^b
	обим струка	101,50 ± 7,86	95,29 ± 10,87	0,166 ^b
	систоли притисак	125,83 ± 11,45	125,71 ± 11,34	0,983 ^b
	дијастоли притисак	80,83 ± 10,84	78,57 ± 8,99	0,686 ^a
		MAT+DRV	K-DRV	
0. недеља	телесна маса	83,92 ± 11,78	84,83 ± 20,00	0,902 ^b
	BMI	26,05 ± 3,82	26,55 ± 3,71	0,792 ^b
	обим струка	96,69 ± 10,70	93,50 ± 16,34	0,615 ^b
	систоли притисак	123,08 ± 11,28	125 ± 13,78	0,751 ^b
	дијастоли притисак	78,85 ± 7,68	81,67 ± 9,83	0,573 ^a
12. недеља	телесна маса	84,62 ± 12,05	85,33 ± 19,41	0,922 ^b
	BMI	26,26 ± 3,88	26,71 ± 3,45	0,811 ^b
	обим струка	96,62 ± 11,72	93,50 ± 15,24	0,630 ^b
	систоли притисак	118,46 ± 9,87	120 ± 6,32	0,733 ^b
	дијастоли притисак	77,69 ± 7,25	76,67 ± 5,16	0,845 ^a
		MAT+RAL	K-RAL	
0. недеља	телесна маса	87 ± 5,59	91 ± 14,61	0,522 ^b
	BMI	27,20 ± 3,09	28,13 ± 3,53	0,627 ^b
	обим струка	100,33 ± 10,84	105,14 ± 13,26	0,494 ^b
	систоли притисак	125 ± 5,48	132,86 ± 13,80	0,245 ^a
	дијастоли притисак	78,33 ± 7,53	82,86 ± 4,88	0,218 ^a
12. недеља	телесна маса	87,67 ± 7,37	89 ± 12,67	0,721 ^a
	BMI	27,36 ± 2,91	27,51 ± 2,84	0,924 ^b
	обим струка	99,50 ± 11	103,57 ± 10,60	0,511 ^b
	систоли притисак	126,67 ± 8,16	130,71 ± 10,96	0,473 ^b
	дијастоли притисак	78,33 ± 7,53	81,43 ± 6,90	0,456 ^b

^a Мен-Витни U-тест^b T-тест независних узорака

Легенда: \bar{x} - средња вредност; SD- стандардна девијација; телесна висина, cm; телесна маса, kg; BMI- индекс телесне масе, kg/m²; обим струка, cm; систоли притисак, mmHg; дијастоли притисак, mmHg; MAT+EFV- испитивана група ефавиренза; K-EFV- контролна група ефавиренза; MAT+DRV- испитивана група дарунавира; K-DRV- контролна група дарунавира; MAT+RAL- испитивана група ралтегравира; K-RAL- контролна група ралтегравира

Није показана статистички значајна разлика између тестираних параметара испитиваних и контролних група.

Извршено је међусобно поређење свих испитиваних и свих контролних група. Резултати су показани у Табели 5.49.

Табела 5.49. Тестирање статистичке значајности међусобне разлике параметара крвне слике између испитиваних група и између контролних група.

време испитивања	параметар	тест група 1 ($\bar{x} \pm SD$)	тест група 2 ($\bar{x} \pm SD$)	тест група 3 ($\bar{x} \pm SD$)	<i>p</i> вредност
0. недеља		MAT+EFV	MAT+DRV	MAT+RAL	
	телесна маса	85,67±13,32	83,92±11,78	87±5,59	0,853 ^a
	BMI	26,91±3,65	26,05±3,82	27,20±3,09	0,756 ^a
	обим струка	101±8,25	96,69±10,70	100,33±10,84	0,525 ^a
	систолни притисак	125±11,87	123,08±11,28	125±5,48	0,844 ^b
	дијастолни притисак	80±7,38	78,85±7,68	78,33±7,53	0,869 ^b
		K-EFV	K-DRV	K-RAL	
	телесна маса	80,71±15,66	84,83±20,00	91±14,61	0,525 ^a
	BMI	24,10±4,12	26,55±3,71	28,12±3,53	0,166 ^a
	обим струка	95±13,51	93,50±16,34	105,14±13,26	0,293 ^a
систолни притисак	125,71±11,34	125±13,78	132,86±13,80	0,844 ^a	
дијастолни притисак	82,86±9,51	81,67±9,83	82,86±4,88	0,815 ^b	
12. недеља		MAT+EFV	MAT+DRV	MAT+RAL	
	телесна маса	87,50±13,28	84,62±12,05	87,67±7,37	0,795 ^a
	BMI	27,49±3,69	26,26±3,88	27,36±2,91	0,676 ^a
	обим струка	101,50±7,86	96,62±11,72	99,50±11	0,497 ^a
	систолни притисак	125,83±11,45	118,46±9,87	126,67±8,16	0,160 ^b
	дијастолни притисак	80,83±10,84	77,69±7,25	78,33±7,53	0,789 ^b
		K-EFV	K-DRV	K-RAL	
	телесна маса	81,57±15,34	85,33±19,41	89±12,67	0,686 ^a
	BMI	24,33±3,91	26,71±3,45	27,51±2,84	0,226 ^a
	обим струка	95,29±10,87	93,50±15,24	103,57±10,60	0,299 ^a
систолни притисак	125,71±11,34	120±6,32	130,71±10,96	0,186 ^a	
дијастолни притисак	78,57±8,99	76,67±5,16	81,43±6,90	0,490 ^b	

^a анализа варијансе^b Краскал-Волис тест

Легенда: \bar{x} - средња вредност; SD- стандардна девијација; телесна висина, cm; телесна маса, kg; BMI- индекс телесне масе, kg/m²; обим струка, cm; систолни притисак, mmHg; дијастолни притисак, mmHg; MAT+EFV- испитивана група ефавиренза; K-EFV- контролна група ефавиренза; MAT+DRV- испитивана група дарунавира; K-DRV- контролна група дарунавира; MAT+RAL- испитивана група ралтегравира; K-RAL- контролна група ралтегравира

Није пронађена статистички значајна разлика између испитиваних нити између контролних група.

5.13. Субјективна процена пацијената

Пацијенти испитиваних група су интервјуисани о искуствима употребе матичњака током 12 недеља. Око 50% пацијената је попунило целокупну анкету.

Упитани за општи утисак о употреби матичњака, пацијенти су употребу окарактерисали као неутралну- без запажања промена у здравственом стању (8 одговора) или као позитивну- претпостављено је побољшање здравственог стања (7 одговора). Само један пацијент је употребу оценио негативно, уз претпоставку да је матичњак био штетан по његово здравствено стање.

Промене које су пацијенти пријавили укључују првенствено смањење нервозе и напетости (10 одговора) и лакше наступање сна (7 одговора). Негативна промена пријављена од стране једног пацијента јесте несаница.

На питање да ли би поново користили матичњак, већина пацијената је одговорила са „можда“ (10 одговора); пет пацијената је одговорило са „да“, а један са „не“.

Упитани да ли би убудуће пре употребе матичњака консултовали лекара, пацијенти су одговарали са „да“ (8 одговора) или „можда“ (6 одговора); само један пацијент је одговорио негативно.

Пре овог испитивања, пацијенти су у већини случајева чули за биљку матичњак (13 одговора). Међутим, само 4 пацијента су га претходно и користили, док већина није (11 одговора).

Изузев питања „Да ли матичњак има везе са валеријаном коју сам раније пио?“, пацијенти нису имали додатних питања или коментара.

6. ДИСКУСИЈА

6.1. Хемијска карактеризација активних принципа препарата матичњака

Анализа хемијског састава представља почетни корак у *in vitro* испитивањима производа природног порекла. Прелиминарна хемијска карактеризација секундарних метаболита даје податак о типу дроге или екстракта који ће се користити или анализирати. У овом истраживању, матичњак је очекивано окарактерисан као биљка богата фенолним једињењима. Детаљнија анализа појединачних компоненти показала је велики удео РК, што је у сагласности са декларисаним садржајем коришћеног дијететског суплемента (7% РК у сувој маси екстракта). Различите биљне врсте могу да послуже као извор овог једињења међу којима се истиче управо матичњак [132, 135]. Розмаринска киселина представља једињење са великим биолошким и фармаколошким потенцијалом [130, 133, 135] који је још увек неистражен у потпуности.

Прелиминарна хемијска карактеризација сугерише да се у екстракту могу наћи и друга фенолна једињења, обзиром да РК представља приближно половину детектоване количине фенола. Спроведеном детаљном анализом одређен је само садржај десет одабраних једињења, што свакако превазилази број једињења потенцијално присутних у екстракту. Друга истраживања показала су значај детаљније анализе екстраката. Интересантно, поређењем деловања чисте супстанце РК и екстраката који су богати овим једињењем, предност се може дати екстрактима. Испитивање антитуморског ефеката на ћелијским линијама је показало да је нижа концентрација екстракта потребна за цитотоксични ефекат у поређењу са чистом РК, а такође је показано да се циљани ефекат постиже другачијим механизмима [159, 160]. Дати ефекат се потенцијално може објаснити разликама у саставу, обзиром да екстракт може садржати бројна друга једињења која могу показати синергистички ефекат са количински најзаступљенијом компонентом.

Клиничке студије које се баве испитивањем фармакокинетских интеракција антиретровирусних лекова и лековитих биљака ређе врше проверу хемијског састава. Неки од изузетака су студије са афричким биљкама *Huroxis* sp. L., Huroxidaceae [161, 162] и *Sutherlandia frutescens* (L.) R.Br., Fabaceae [163]. Управо провером квалитативног и квантитативног састава биљних препарата могуће је детектовати претпостављени активни

принцип, али и синергистичка једињења, чиме се отвара могућност испитивања интеракција на нивоу ткива, ћелије или чак молекула. Како би резултати клиничких студија које се баве овом проблематиком имали пуну тежину закључака, провера претпостављених активних принципа би требала да постане први и обавезан корак оваквих испитивања.

6.2. Одређивање *in vitro* антихипергликемичног деловања матичњака

Ензими α -амилаза и α -глукозидаза учествују у разградњи комплексних угљених хидрата, те представљају погодну терапијску мету у лечењу постпрандијалне хипергликемије. Тестови којима се испитују активности биљних екстраката у инхибицији ових ензима, корисни су *in vitro* тестови којима се процењује антихипергликемични потенцијал у превенцији и терапији (пре)дијабетичних стања. Суплемент на бази екстракта матичњака коришћен у овом испитивању показао је добру инхибиторну активност при релативно ниским концентрацијама. При датим тестираним концентрацијама утврђена је боља анти- α -глукозидазна активност. Претходне студије поредиле су екстракте као комплексне матриксе и чисту РК, при чему је показано да чиста супстанца инхибише ензим у нижим концентрацијама [164]. У случају биљних екстраката показано је да анти- α -амилазна активност екстраката расте са порастом концентрације РК [165, 166]; међутим, екстракт оригана са 7% РК показао је сличну активност као екстракт матичњака са 50% РК [165], те се још једном истиче значај осталих присутних једињења за испољавање биолошког и фармаколошког потенцијала. Слично анти- α -амилазној активности, инхибиција α -глукозидазе постиже се нижим концентрацијама РК у поређењу са концентрацијама биљних екстраката [164]. Интересантно, претходне *in silico* студије показале су да РК показује некомпетитивну инхибицију и у случају α -амилазе и α -глукозидазе [167].

6.3. *In vitro* ферментација розмаринске киселине и екстракта матичњака

Цревна микробиота човека има велику улогу у метаболизму ксенобиотика. Процењује се да преко 95% комплексних фенолних једињења не може да се апсорбује у цревима, те да пре

процеса апсорпције подлежу бројним и различитим структурним променама укључујући оне посредоване пробиотским микроорганизмима [168]. Претходно изведене студије су испитале неке аспекте стабилности РК у микробној ферментацији. Употребом чисте бактеријске културе пробиотског соја *Lactobacillus johnsonii* показано је да интраћелијски ензим ове бактерије изазива брзу и ефикасну разградњу РК (преко 80% почетне количине за 6 сати) [146]. Овај сој није био присутан у пробиотским препаратима коришћеним у овом истраживању, али је истакнут значај соја *L. helveticus* као соја који је допринео изузетној ферментативној способности пробиотика П5 (при употреби и РК и препарата на бази екстракта матичњака као ферментативног супстрата). Наведено сугерише да поједине врсте лактобацила могу имати изражену тенденцију ка разградњи РК. Друга студија која је испитивала утицај *in vitro* микробне ферментације на стабилност РК је користила фецес пацова као извор микроорганизама, док је као ферментативни супстрат и извор РК коришћен екстракт рузмарина. Након процеса ферментације, садржај укупних фенолних једињења је редукован на 21%, а садржај РК и кафене киселине је снижен за око 14% [145] што је упоредиво са резултатима овог испитивања. Методолошки најкомплексније истраживање утицаја цревне микробиоте на разградњу РК изведено је у истраживању на људима, а састојало се од *in vitro* и *in vivo* ферментације. *In vitro* сегмент истраживања је спроведен слично претходној студији [145], уз разлике да је као ферментативни супстрат коришћено етарско уље тимијана обogaћено РК, а као извор микроорганизама хумани фецес. Резултати овог истраживања су, слично првој *in vitro* студији, указали на брз метаболизам РК. Редукција највеће количине РК одвија се у првих 6 сати ферментације, а после 12 сати је концентрација РК сведена на недетектабилне нивое. Истовремено, у првих 6 сати долази до повећања концентрације кафене киселине чиме се сугерише распадање РК на фенолне јединице од којих је састављена [169]. Ови резултати су у сагласности са нашим истраживањем где је показано да поједини сојеви микроорганизама фаворизују овај процес. *In vivo* сегмент је подразумевао тестирање фецеса на присуство РК након тронедељне употребе препарата обogaћеног РК, где РК није детектована, али су детектовани метаболити првенствено деривати хидроксифенилпропионске киселине. На основу добијених резултата се још једном потврђује да је метаболизам под дејством цревне микробиоте брз и опсежан [169]. Сви резултати наведених студија, као и овај рад, сугеришу да перорална примена РК резултује губицима услед микробне ферментације. Додатно се може претпоставити да би

истовремена перорална примена екстракта матичњака (или другог екстракта богатог РК) и пробиотских препарата резултовала значајним губицима РК. Потенцијални начини за смањење губитка РК подразумевали би развој адекватне фармацеутске формулације, дериватизацију са другим једињењима или промену начина апликације [135, 170-172].

6.4. Одређивање концентрације розмаринске киселине у крви пацијената

Као што је претходно наведено, РК је коришћена као маркер употребе матичњака. Према литературно доступним подацима, у овом истраживању су одређене концентрације РК после временски најдуже примене биљног екстракта који садржи ово једињење. До данас најдужа примена уз праћење концентрације РК и метаболита је износила 30 дана [173]. Претходна истраживања углавном су анализирали концентрацију РК у плазми након примене појединачне дозе екстракта који садрже ово једињење [135]. Приликом испитивања фармакокинетских особина примене РК код људи коришћен је екстракт биљке *Perilla frutescens* (L.) Britton, Lamiaceae, а том приликом је показано да се већина РК (и других метаболита, попут метил-РК и ферулне киселине) налази у конјугованом облику, махом сулфоглукуронида. Концентрације РК (и конјугованог и неконјугованог облика) одређене након пероралне примене 200 mg екстракта биљке *P. frutescens* износиле су $1,15 \pm 0,28 \mu\text{mol/L}$ [148]. Нешто детаљнија студија је поредила пероралну примену мање и веће дозе екстракта матичњака. Показано је да се двоструким повећањем дозе (са 250 mg на 500 mg) приближно двоструко повећава и концентрација РК у плазми (са $72,22 \pm 12,01 \text{ nmol/L}$ на $162,20 \pm 40,20 \text{ nmol/L}$). Међутим, повећање дозе резултује повећањем неконјугованих облика РК чиме се указује на сатурациону кинетику процеса конјугације [117]. Ово је у супротности са резултатима овог истраживања који показују да дужа временска примена (12 недеља) већих количина екстракта са РК (600 mg дневно), резултује вишим концентрацијама РК у плазми, али у конјугованој форми, што потенцијално сугерише усмеравање ка процесу конјугације или се хроничном применом повећава активност ензима укључених у ову фазу метаболизма. Додатно, треба нагласити да су ове концентрације (приказано у Сликама 5.11-5.13) измерене, у већини случајева, пред крај периода дозирања од 24 сата, што указује на сатурацију плазме РК. Слично томе, након

дуже примене екстракта дивље нане (*Mentha spicata* L., Lamiaceae) (током 30 дана), РК није детектована у основном облику у крви (док се као главни метаболит наводи глукуронид метил-РК) [173].

Према литературно доступним подацима, студије које испитују фармакокинетске интеракције антиретровирусних лекова и лековитих биљака не спроводе одређивање концентрације претпостављених главних активних принципа ових биљака у крви пацијената. У случајевима где се потврде фармакокинетске интеракције одређивање концентрације активног принципа у крви корисно је за утврђивање доза при којима долази до интеракција, као и за будуће управљање терапијом приликом истовремене примене.

6.5 Одређивање концентрације антиретровирусних лекова у крви пацијената

Током антиретровирусне терапије пацијената је могуће одређивање концентрације лекова који су део терапијског режима. Ова лабораторијска анализа није рутинска процедура и представља сегмент праћења лекова у терапији (енг. *therapeutic drug monitoring* – TDM). Оваква лабораторијска анализа изводи се у више различитих случајева, а једна од индикација за TDM јесте сумња на фармакокинетске интеракције лекова и лековитих биљака. Уколико се одговарајућим поступком покаже да детектоване концентрације улазе под супра- или субтерапијски опсег, неопходно је утврдити разлог и потом уклонити узрок или евентуално кориговати дозу прописаног лека [174]. Студије којима се испитују фармакокинетске интеракције антиретровирусних лекова и медицински значајних биљака обично имају мањи број испитаника, испод 20 [161, 175-177], што је приближно броју учесника у овој студији (приказано у Сликама 5.5-5.7).

6.5.1 Одређивање концентрације ефавиренза

Између три лека испитивана у овом истраживању, ефавиренз представља најстарији лек који се данас постепено напушта услед постојања лекова са бољим односом ефикасност-безбедност. Међутим, овај лек се и даље користи у земљама нижег и средњег економског статуса и у одсуству друге антиретровирусне терапије. Као што је претходно наведено, овај лек се у већој мери метаболише путем јетреног изоензима цитохрома CYP2B6, док се мањи

део метаболише путем CYP3A4, а сам лек показује индукцију ензима CYP3A4 инхибицију ензима CYP2C9/19 [64]. Услед наведеног, теоретски су могуће интеракције на нивоу свих наведених изоензима. До сад доступни подаци из клиничких студија и приказа случајева показали су постојање и непостојање интеракција ефавиренза са појединим медицински значајним биљкама. Забележено је неколико приказа случаја пацијената који су у терапији користили ефавиренз уз гинко [178, 179]. Истовремена примена резултовала је субтерапијским концентрацијама ефавиренза у плазми [178], а последично је дошло и до повећања броја копија вируса [178, 179]. Овакав исход вероватно је последица индуктивног дејства терпеноидних једињења на јетрене ензиме [178]. Клиничка студија која се бавила утицајем истовремене примене афричког кромпира (*Hypoxis hemerocallidea* Fisch.Mey. & Avé-Lall., Нуроксидасеае) уз ефавиренз, показала је да ова биљка не утиче на фармакокинетске параметре, те се не очекује промена концентрација лека која би утицала на ефикасност терапије [161]. Слично томе, у овом истраживању није показана статистички значајна разлика у концентрацијама ефавиренза пре и после примене матичњака, а разлике нису забележене ни поређењем испитиване и контролне групе. Услед тога, може се претпоставити да је истовремена примена матичњака (као и афричког кромпира) уз антиретровирусну терапију која садржи ефавиренз безбедна.

6.5.2. Одређивање концентрације дарунавира

Насупрот ефавирензу, дарунавир припада новијим лековима, а као што је претходно наведено, метаболише се путем изоензима 3A4, а уједно је и његов инхибитор [64]. Услед мањег утицаја на метаболичке путеве, мањи је и потенцијални спектар интеракција са фитопрепаратима. Поред теоретски предвиђених интеракција, мало је доступних података о (не)безбедности истовремене примене. У овом истраживању, концентрације лека су упоређене пре и после примене матичњака, а извршена је и компарација испитиване и контролне групе. Услед постојања лека у две различите терапијске дозе које се узимају једном или два пута дневно, извршена је подела група на две подгрупе означене са 1x (узимање једном дневно) и 2x (узимање два пута дневно). Након 12 недеља употребе, у групи MAT+DRV 1x, уочава се да је средња вредност концентрације лека готово упола мања. Међутим, ова разлика првенствено услед релативно велике вредности стандардне девијације није статистички значајна. Поред овога, поређењем испитиване и контролне

групе MAT+DRV 2x, показано је да је у испитиваној групи готово дупло већа концентрација лека након 12 недеља употребе, али ова разлика опет није статистички значајна. Наведено сугерише да примена матичњака, уз терапију која садржи дарунавир, у једној или две дневне дозе јесте безбедна. Претходна *in vitro* испитивања РК показала су да ово једињење има благо инхибиторно деловање на CYP3A4 [120]. Услед запажених благих повећања концентрација лека, резултати овог испитивања су у складу са хипотезом да истовремена примена матичњака са дарунавиром може довести до оваквог исхода. Међутим, додатни резултати првенствено одређивање вредности HIV РНК виремије, али и друге анализе, треба да покажу да ли је за појединачне случајеве неопходна корекција дозе у случају дуже примене већих количина екстракта матичњака. Неке од претходних студија су такође испитивале безбедност истовремене примене лековитих биљака и дарунавира. Клиничком студијом је испитана примена ехинацеје (*Echinacea purpurea* (L.) Moench, Asteraceae) уз дарунавир бустуран ритонавиром. Ова често коришћена биљка довела је до мање редукције концентрација и AUC код пацијената, при чему снижење није показано као статистички значајно. Међутим, у овој студији која је имала 15 учесника, код два испитаника забележено је значајно снижење концентрације дарунавира (за 30 и 40 посто) чиме се сугерише да би у случају дуже примене већим дозама ехинацеје било корисно спровести TDM [175]. Поред овога, фармакокинетском студијом је испитана истовремена примена ритонавиром бустураног дарунавира и гујине траве (*Sylibum marianum*) где је показано да ова лековита биљка доводи до снижења концентрације лека од око 15% (и дарунавира и ритонавира), али се редукција није показала као значајна, те стога не захтева корекцију у дози код пацијената [176]. Прикази два случаја истовремене конзумације повећаних количина белог лука уз терапију са дарунавиром забележили су снижене концентрације овог лека и последично повећање броја копија вируса у крви. Иако се утицај белог лука и његових активних принципа на метаболизам лекова не може занемарити, претпостављени механизам запажене интеракције је повећана експресија p-гр и ефлукс посредован њиме [180].

6.5.3. Одређивање концентрације ралтегравира

Група ИИ представља новију групу антиретровирусних лекова, иако сам ралтегравир представља први и најстарији лек ове групе. Оно по чему се овај лек још разликује од претходно два поменуто лека обрађивана у овом истраживању јесте његов метаболички пут-

овај лек се не метаболише путем CYP изоензима, већ путем UGT1A1 и не показује индуктивно или инхибиторно дејство [64]. Ово га чини леком избора код пацијената који примају лекове склоне фармакокинетским интеракцијама. Услед наведених карактеристика мање је забележених интеракција ралтегавира са лековитим биљкама. Једна фармакокинетска студија испитала је истовремену примену гинка са ралтегавиром код здравих добровољаца. Иако је забележено повећање C_{max} лека, аутори су сугерисали да ово повећање вероватно није од клиничког значаја, те да истовремена примена не захтева корекције доза [177]. У овом истраживању нису забележене разлике у концентрацијама ралтегавира пре и после примене матичњака, а значајне разлике нема ни између испитиване и контролне групе. Ово сугерише да је истовремена примена дијететског суплемента на бази екстракта матичњака и терапије која укључује ралтегавир безбедна у фармакокинетском смислу.

6.6. Одређивање броја копија HIV РНК

Инхибиција репликације вируса у организму је основни циљ антиретровирусне терапије. Услед карактеристика самог вируса, антиретровирусних лекова, као и хуманог организма, репликација се чак и у случају потпуно успешне терапије не постиже потпуно у свим анатомским и физиолошким целинама. Међутим, у крви као лако доступном ткиву и компартману могуће је извршити супресију вирусне репликације. Стога, позитиван налаз, односно појава повећаног број копија вируса у крви у случају непромењене терапије, указује на неадекватну комплијансу пацијената или на развој резистенције. Неуспех лечења је у појединим случајевима управо довео лекара до сумње о употреби лековитих биљака уз конвенционалну терапију и њихове потенцијалне интеракције или појаву резистенције [178-181]. У овом истраживању провера виремије служила је као основни параметар безбедности истовремене примене антиретровирусне терапије са тестираним лековима и матичњака. На основу недетектабилне виремије на почетку и на крају истовремене примене матичњака можемо закључити да је његова истовремена примена са антиретровирусном терапијом безбедна у смислу одржавања антиретровирусне ефикасности. У истраживањима сродне тематике, нарочито у оним спроведеним са циљем испитивања фармакокинетике

лекова, провера виремије је имала исти циљ, а детектабилна виремија није забележена [175, 176].

6.7 Одређивање хематолошких параметара у крви пацијената

Одређивање хематолошких параметара вероватно је најрастроштрањенија лабораторијска анализа која се спроводи. Код пацијената инфицираних HIV-ом ова анализа се рутински спроводи у циљу праћења општег здравственог стања. Поред овога, анализа крвне слике се често спроводи у клиничким испитивањима као тест којим се прати безбедност тестираног лека или дијететског суплемента. У овом истраживању није пронађена статистички значајна разлика између тест група ни у једном од три статистичка тестирања (поређење пре и после интервенције, поређење испитиваних и контролних група и поређење испитиваних односно контролних група међусобно). Ово испитивање потврдило је да употреба матичњака нема утицаја на вредности хематолошких параметара. Претходне студије примене матичњака су такође тестирале хематолошке параметре код учесника испитивања. У фармакокинетским испитивањима РК, применом појединачних доза екстраката са овим једињењем, није дошло до промена у параметрима крвне слике [116, 117]. Студије којима се испитивала ефикасност примене матичњака код различитих стања нису ни испитивале хематолошке параметре, али су користиле неке друге клиничке и лабораторијске параметре у циљу евалуације безбедности [98, 99, 101, 102]. Студије које су испитивале истовремену примену лековитих биљака и антиретровирусних лекова, налаз крвне слике су користиле за процену безбедности [175, 176].

6.8 Одређивање имунолошких параметара у крви пацијената

Убрзо након открића HIV-а показано је да вирус доводи до редукције броја CD4+ Т лимфоцита као и да овај параметар може прогнозировать даљи развој тока болести [182]. Управо услед рано препознатог значаја ових ћелија имунитета, рано су започета и истраживања којим се медицинске значајне биљке користе у циљу очувања постојећег или

чак повећања броја CD4+ Т лимфоцита [183]. Неке од претходно објављених опсервационих [54, 184], али и интервентних студија [185] примене традиционалних биљних лекова указали су на потенцијал биљака у овом погледу.

У овом истраживању није показана статистички значајна разлика у поређењу пре и после, нити у поређењу испитиваних и контролних група. Разлика је уочена поређењем контролних група међусобно и пре и после периода испитивања, уз забележене ниже вредности CD4+ Т лимфоцита у контролној групи ралтегравира. Ово се потенцијално може објаснити старашћу пацијената с обзиром да услед слабије имунолошке реактивности, вредности CD4+ Т лимфоцита не досежу вредности које је могуће постићи код млађих пацијената. Такође је могуће да је иницијални број CD4+ Т лимфоцита код групе пацијената са ралтегравиrom био нижи него код других пацијената. Поређењем вредности CD4+ Т лимфоцита одговарајуће групе пре-после, као и испитивана-контролна, статистички значајне разлике нису запажене. Ово сугерише да матичњак не поседује имуностимулативно деловање у смислу повећања броја CD4+ Т лимфоцита. Претходно поменуте студије код HIV-ом инфицираних пацијената [175, 176] су тестирале ниво CD4+ Т лимфоцита на почетку студије, али вредности овог параметра нису праћени током истраживања.

6.9 Одређивање биохемијских параметара у крви пацијената

Лековите биљке неретко налазе место у превенцији и терапији поремећаја метаболизма угљених хидрата и липида, као и у хепатопротективне сврхе, те се поједине од њих користе и у традиционалној, али и у савременој рационалној фитотерапији. До сад спроведене студије показале су бенефите употребе матичњака, али и РК у терапији поремећаја метаболизма угљених хидрата и липида [68, 127]. Матичњак је тестиран и у клиничким студијама. Међутим, према литературно доступним подацима, ово је прва студија која је тестирала ефикасност ове биљке у регулацији поремећаја метаболизма липида и угљених хидрата код пацијената инфицираних HIV-ом. Код пацијената са HIV инфекцијом је претходно тестирана ефикасност примене чоколаде и мате чаја (*Ilex paraguariensis* A.St.-Hil., Aquifoliaceae). Применом ових намирница, након месец дана забележен је позитиван

ефекат на нивоу HDL-а. Овакав ефекат приписан је фенолним једињењима којим су ове намирнице биле богате, што сугерише да је ова група једињења активни принцип [186, 187] слично као у спроведеном истраживању. Резултати ове студије (матичњак) и претходно описане (чоколада и мате чај) су у супростности са студијом која је тестирала утицај куркумина на липидни профил код пацијената са HIV инфекцијом где је као резултат забележено повећање серумских триглицерида [188] иако је активни принцип куркумин такође фенолно једињење као и РК.

Претходне студије су тестирале матичњак у овом погледу, али код других популација испитаника. Једна студија је тестирала ефекте свакодневне примене инфуза матичњака, два пута током дана, током 30 дана, код радника фабрике за прераду алуминијума. Као резултат, забележени су снижени нивои серумских триглицерида и холестерола [98]. У другом истраживању, код пацијената са дијабетесом типа 2, након 12 недеља суплементације са 700 mg екстракта матичњака на дан, забележено је значајно повећање нивоа HDL-а. Истовремено, показано је значајно смањење нивоа глукозе наше, уз смањење нивоа гликозилираног хемоглобина HbA1c [102]. Још једно истраживање исте дужине трајања са истом дозом екстракта матичњака спроведено такође код пацијената са дијабетесом типа 2, показало је значајну редукцију нивоа триглицерида нарочито код пацијената који су иницијално имали више вредности триглицерида у серуму [99]. Код пацијената са гранично повишеним нивоима липида који су током 2 месеца узимали 3 g спрашеног листа матичњака, ефикасно је снижен ниво LDL-а [101]. Код пацијената са хроничном стабилном ангином, примена 3 g матичњака дневно, током 8 недеља, показала је изразито позитиван ефекат. Забележене су редукције нивоа триглицерида, укупног холестерола и LDL-а, као и повећање нивоа HDL-а [118]. Све претходно наведено сугерише да матичњак има потенцијал у терапији поремећаја метаболизма угљених хидрата и липида. У овој студији нису показана статистички значајна побољшања нивоа праћених параметара као последица употребе матичњака. До редукције нивоа холестерола је дошло у контролној групи ралтегравира након 12 недеља. Ово се може објаснити чињеницом да су иницијално забележене вредности холестеролемије у овој групи изузетно високе, те је након 12 недеља дошло до њихове нормализације. Пацијенти који су учествовали у овој студији су имали већ развијен MetS, што може сугерисати да би терапија само матичњаком као хипогликемијским и хиполипемичким агенсом захтевала већу дозу и/или дужу примену

екстракта. Аспект који није испитан, а свакако би захтевао пажњу јесте примена матичњака уз конвенционалне лекове који имају овакав терапијски циљ, као и превентивна примена матичњака са циљем спречавања развоја MetS.

Испитивање нивоа јетрених ензима користан је лабораторијски тест којим се може пратити безбедност неког ксенобиотика, а код пацијената са постојећим оштећењима јетре, редукција нивоа може указати на позитивне ефекте при примени. У овом истраживању, забележено је повећање вредности ALT и AST и то код испитиване групе ефавиренза након 12 недеља примене матичњака, док у осталим испитиваним групама није забележена статистички значајна разлика у нивоима јетрених ензима. Међутим, повишење ових ензима је било у границама референтних вредности, а запажа се и висока вредност стандардне девијације, на основу чега се не могу претпоставити нежељени ефекти на нивоу јетре. Додатно, на повишење јетрених ензима могу утицати и други лекови које пацијенти користе у терапији других стања и обољења, као и преостали лекови антиретровирусне терапије („кичма“ терапије). Не могу се занемарити ни негативни утицаји психоактивних супстанци и алкохола иако пацијенти нису пријављивали употребу, нити су забележени потатори били одмах укључени у студију. Друга истраживања сугеришу позитивне ефекте матичњака код пацијената. Снижење нивоа AST забележено је код пацијената са повишеним липидима који су узимали 3 g спрашеног листа матичњака током 2 месеца [101]. Такође, инфуз матичњака примењиван током месец дана успешно је снизио ниво овог ензима код радника фабрике за прераду алуминијума [98]. Слично овоме, код пацијенткиња са дијабетесом типа 2, након 3 месеца суплементације са 1000 mg екстракта матичњака, ниво ALT-а је био значајно снижен [99]. Наведене студије указале су да матичњак поседује хепатопротективни потенцијал, али се у случају HIV инфекције не могу занемарити два битна фактора: вирусна репликација и антиретровирусни лекови са нежељеним ефектима на нивоу јетре.

6.10 Одређивање показатеља оксидативног стреса и антиоксидативне заштите

Оксидативни стрес представља дисбаланс између производње и накупљања реактивних кисеоничних врста у људском организму и способности истог да одговарајућим процесима ове врсте уклони и детоксикује [189]. Код особа са HIV инфекцијом на антиретровирусној терапији, овај дисбаланс је додатно померен ка про-оксидативном стању, управо услед два наведена фактора, а унос егзогенних антиоксиданаса значајан је за превенцију и терапију свих стања и болести које у основи имају претпостављен оксидативни стрес као узрок и фактор ризика [190, 191].

Према доступним подацима ово је прва студија којом се бенефит примене матичњака у смислу редукције оксидативног стреса тестира код пацијената инфицираних HIV-ом. Међутим, неколико претходно објављених студија је тестирало бенефите других лековитих биљака у овом погледу. Током 12 месеци примене биљне врсте *Alternanthera pungens* Kunth, Amaranthaceae, код пацијената са HIV инфекцијом, без претходне антиретровирусне терапије, праћен је ниво MDA, као и ниво финалних продуката одмакле фазе оксидације протеина (енг. *advanced oxidation protein end products*). Показано је да примена биљке значајно смањује концентрације оба типа продуката оксидације [192]. Студија на пацијенткињама са HIV инфекцијом, без претходне употребе антиретровирусне терапије, пратила је тромесечну примену спирулине (*Arthrospira platensis* Gomont, Microcoleaceae) и као последица овакве интервенције забележено је повећање укупног антиоксидантног капацитета крви [193]. Повећање истог параметра уз истовремено смањење концентрације продуката липидне и нитратно-нитритних метаболита азот-оксида забележено је код деце са HIV инфекцијом након тромесечне суплементације гљивом шумарицом (*Agaricus sylvaticus* Schaeff., Agaricaceae) [194]. Три претходно наведене студије показују бенефите примене биљака и код пацијената који нису претходно били на терапији, али и код оних који јесу. У овом истраживању пацијенти су били на терапији дуже време. У испитиваним групама ефавиренза и дарунавира, након 12 недеља примене матичњака дошло је до смањења TBARS. Овакав резултат сугерише на позитивне ефекте матичњака у овом погледу чак и код пацијената дуже време изложеним антиретровирусној терапији.

Корист примене матичњака у редукцији оксидативног стреса претходно је показана у три клиничка испитивања. У истраживању на радницима запосленим на одељењу радиологије,

изложеним нискодозном јонизујућем зрачењу, инфуз матичњака је примењиван два пута дневно. Након 30 дана примене, забележено је значајно снижење продуката липидне пероксидације, али и 8-хидрокси-2-деоксигуанозина као маркера ДНК оштећења [111]. Примена 3 g матичњака дневно код пацијената са хроничном стабилном ангином резултовала је смањењем продуката липидне пероксидације након 8 недеља примене [118]. Поред маркера оштећења биомолекула липидне природе, тестиран је утицај матичњака на антиоксидативне ензимске системе. Претходно описана студије код радника са радиологије показала је повећање активности ензима супероксид дисмутазе, глутатион пероксидазе и каталазе, као и смањење активности екстрацелуларне мијелопероксидазе [111]. Друга претходно описана студија на пацијентима са хроничном стабилном ангином, показала је значајно повећање параоксоназе 1, ензима значајног у елиминацији штетних продуката липидне пероксидације [118]. Студија изведена на радницима фабрике алуминијума тестирала је неспецифичне антиоксидативне системе и забележила повећање укупног антиоксидативног капацитета и укупних тиолних молекула [98]. У овој студији показано је статистички значајно повећање активности GST у испитиваној групи ефавиренза након 12 недеља примене препарата на бази екстракта матичњака. Све наведено сугерише да примена матичњака има позитиван утицај на редукцију оксидативног стреса код пацијената и код здравих добровољаца изложених потенцијалним оксидативним агенсима, а резултат овог истраживања указује да је матичњак биљна врста која смањује оксидативни стрес и повећава антиоксидативну заштиту организма и код HIV-ом инфицираних пацијената на терапији ефавирензом и дарунавиром, док промене нису запажене код пацијената на терапији ралтегравиром.

6.11 Антропометрија

Пацијенти на антиретровирусној терапији могу да оболе од MetS. Код већ постојећег MetS, редукција вредности које су повишене (или снижене у случају HDL-а) под дејством одговарајућег ко-терапијског агенса, указује на бенефите његове примене.

У студијама које су испитивале истовремену употребу лековитих биљака и антиретровирусних лекова (испитиваних у овом истраживању), антропометријски

параметри праћени у овом истраживању нису испитивани. Изузетак је праћење крвног притиска, али као параметра безбедности примене уз праћење пулса [161]. Насупрот овоме, студија која је испитивала употребу матичњака код пацијената са дијабетесом типа 2, показала је да 12 недеља примене има тенденцију редукције повишеног систолног крвног притиска [102]. Друга студија исте дужине трајања и на пацијентима истог обољења, показала је сличне резултате односно редукцију крвног притиска нарочито код пацијената са иницијално вишим вредностима притиска (и систолног и дијастолног). У истом истраживању праћен је и утицај матичњака на обим струка и обим кукова, али овом приликом није пронађена статистички значајна разлика [99]. Претходно поменути параметри- систолни и дијастолни притисак, као и обим струка- праћени су и у овом истраживању. Поређењем група пре-после, испитивана-контролна као и међусобним поређењем, није пронађена статистички значајна разлика.

Уско повезан са антропометријским параметрима мереним у овом истраживању је и утицај на апетит. Подаци о утицају матичњака су ограничени и контрадикторни. Претклиничка испитивања на животињама су сугерисала да матичњак има улогу у редукцији телесне тежине, без утицаја на апетит, док је у две хумане студије повећан апетит забележен као нежељено дејство [68, 95, 99]. Пацијенти овог истраживања нису пријавили овакво нежељено дејство. Међутим, статистички значајно повећање телесне масе и ВМІ након периода испитивања у испитиваној групи ефавиренза може сугерисати на непрепознат повећан апетит. Треба напоменути да у овој студији, превентивно услед дужине трајања (12 недеља), нису праћене прехранбене навике пацијената, иако су поједине студије примене биљака код пацијената са HIV инфекцијом [188] или примене матичњака код пацијената са различитим обољењима [99, 102, 118] пратиле и овај фактор.

6.12 Субјективна процена пацијената

Поред објективних, лабораторијских и клиничких резултата, пацијенти испитиваних група упитани су за своје утиске о учешћу у овом истраживању. Већина испитаника је имала позитиван или неутралан утисак и исказали су да би потенцијално додатно користили матичњак. Уопштено посматрано, пацијенти инфицирани HIV-ом исказују интересовање за

различите облике комплементарне и алтернативне терапије међу којима је фитотерапија можда најпознатији облик [195]. Примена биљака у ко-терапији HIV-а је претходно описана, као и њени бенефити. Оно што је приликом истовремене примене лековитих биљака и антиретровирусне терапије (као и у случају комбиновања са другим класама лекова) битно нагласити пацијенту јесте да „биљно“ није синоним са „безбедно“, услед нежељених ефеката лековитих биљака, али и потенцијалних интеракција. Друга ствар коју је битно нагласити јесте да се у случају фитотерапије не сме прекидати конвенционална терапија, а у случајевима појединих биљака (нпр. кантарион, бели лук) потребна је и корекција дозе коју само лекар треба да пропише. Према доступној литератури, претходне студије које су испитивале истовремену примену конвенционалних антиретровирусних лекова и биљних препарата, нису испитивале субјективне утиске учесника испитивања. Потенцијално, испитивањем субјективних утисака пацијената о терапији лековитим биљкама, утиче се на свест пацијента о ефикасности и безбедности истих, нарочито у примени уз конвенционалну терапију.

7. ЗАКЉУЧЦИ

- Анализом крви пацијената са HIV инфекцијом, показано је да конјуговани облици розмаринске киселине са глукуронидом и сулфатом у плазми представљају биомаркер хроничне примене матичњака.
- Анализа концентрација лекова ефавиренза, дарунавира и ралтегравира показала је да истовремена употреба матичњака не доводи до значајних промена у концентрацији датих испитаних лекова.
- Применом матичњака не долази до репликације вируса у крви.
- Тестирањем хематолошких, имунолошких параметара и параметара метаболизма угљених хидрата и липида, нису забележене разлике након 12 недеља употребе матичњака.
- У оквиру праћења функције јетре, показано је повећање јетрених ензима аспартат аминотрансферазе и аланин аминотрансферазе, али само у испитиваној групи ефавиренза и у оквиру физиолошких вредности.
- Праћењем нивоа оксидативног стреса, показано је да примена матичњака редукује нивое продуката липидне пероксидације код пацијената испитиваних група на терапији ефавирензом и дарунавиром, а код пацијената на терапији првим леком додатно повећава и активност глутатион-S-трансферазе.
- У оквиру праћених антропометријских параметара, забележено је повећање телесне масе и индекса телесне масе код пацијената испитиване групе на терапији ефавирензом.
- Резултати ове студије указују да је примена дијететског суплемента на бази екстракта матичњака, током 12 недеља, у дози од 600 mg дневно, безбедна и ефикасна у смањењу оксидативних оштећења код пацијената инфицираних вирусом хумане имунодефицијенције који у својој терапији примају ефавиренз, дарунавир и/или ралтегравир.

ЛИТЕРАТУРА

1. Centers for Disease Control and Prevention (CDC). Pneumocystis Pneumonia --- Los Angeles. 1981 [cited 2020 Dec 24]. Available from: https://www.cdc.gov/mmwr/preview/mmwrhtml/june_5.htm.
2. Centers for Disease Control and Prevention (CDC). Epidemiologic Notes and Reports Update on Kaposi's Sarcoma and Opportunistic Infections in Previously Healthy Persons -- United States. 1982 [cited 2020 Dec 24]. Available from: <https://www.cdc.gov/mmwr/preview/mmwrhtml/00001111.htm>
3. Barre-Sinoussi F, Ross AL, Delfraissy JF. Past, present and future: 30 years of HIV research. *Nat Rev Microbiol*. 2013;11(12):877-83.
4. Gallo RC, Montagnier L. The discovery of HIV as the cause of AIDS. *N Engl J Med*. 2003;349(24):2283-5.
5. Coffin J, Haase A, Levy JA, Montagnier L, Oroszlan S, Teich N, et al. What to call the AIDS virus? *Nature*. 1986;321(6065):10.
6. De Cock KM, Jaffe HW, Curran JW. The evolving epidemiology of HIV/AIDS. *AIDS*. 2012;26(10):1205-13.
7. Pattishall K. Discovery and Development of Zidovudine as the Cornerstone of Therapy to Control Human Immunodeficiency Virus Infection. In: Adams VJM, editor. *The Search for Antiviral Drugs*. New York: Springer Science; 1993.
8. German Advisory Committee Blood (Arbeitskreis Blut), Subgroup 'Assessment of Pathogens Transmissible by Blood'. Human Immunodeficiency Virus (HIV). *Transfus Med Hemother*. 2016;43(3):203-22.
9. International Committee on Taxonomy of Viruses (ICTV). Taxonomy. 2021 [cited 2020 Dec 24]. Available from: <https://talk.ictvonline.org/taxonomy/>.
10. Ferguson MR, Rojo DR, von Lindern JJ, O'Brien WA. HIV-1 replication cycle. *Clin Lab Med*. 2002;22(3):611-35.
11. Kirchhoff F. HIV Life Cycle: Overview. In: Hope T, Stevenson M, Richman D, editors. *Encyclopedia of AIDS*. New York: Springer Science; 2013.
12. Atta MG, De Seigneux S, Lucas GM. Clinical Pharmacology in HIV Therapy. *Clin J Am Soc Nephrol*. 2019;14(3):435-44.
13. Arts EJ, Hazuda DJ. HIV-1 antiretroviral drug therapy. *Cold Spring Harb Perspect Med*. 2012;2(4):a007161.
14. Pau AK, George JM. Antiretroviral therapy: current drugs. *Infect Dis Clin North Am*. 2014;28(3):371-402.
15. Sashindran VK, Chauhan R. Antiretroviral therapy: Shifting sands. *Med J Armed Forces India*. 2016;72(1):54-60.
16. Bastos MM, Costa CCP, Bezerra TC, da Silva FC, Boechat N. Efavirenz a nonnucleoside reverse transcriptase inhibitor of first-generation: Approaches based on its medicinal chemistry. *Eur J Med Chem*. 2016;108:455-65.
17. University of Liverpool, HIV drug interactions web-site. Efavirenz PK Fact Sheet. 2016 [cited 2020 Dec 24]. Available from: www.hiv-druginteractions.org/prescribing_resources/hiv-pk-efavirenz

18. Agencija za lekove i medicinska sredstva Srbije. Uputstvo za lek Stocrin®. 2019 [citirano 2020 Dec 24]. Available from: https://www.alims.gov.rs/doc_file/lekovi/pil/515-01-04195-18-001.pdf.
19. Vrouenraets SM, Wit FW, van Tongeren J, Lange JM. Efavirenz: a review. *Expert Opin Pharmacother.* 2007;8(6):851-71.
20. European AIDS Clinical Society. EACS Guidelines, version 11.0. October 2021.
21. Robertson J, Feinberg J. Darunavir : a nonpeptidic protease inhibitor for antiretroviral-naive and treatment-experienced adults with HIV infection. *Expert Opin Pharmacother.* 2012;13(9):1363-75.
22. Spagnuolo V, Castagna A, Lazzarin A. Darunavir for the treatment of HIV infection. *Expert Opin Pharmacother.* 2018;19(10):1149-63.
23. Renjifo B, van Wyk J, Salem AH, Bow D, Ng J, Norton M. Pharmacokinetic enhancement in HIV antiretroviral therapy: a comparison of ritonavir and cobicistat. *AIDS Rev.* 2015;17(1):37-46.
24. University of Liverpool, HIV drug interactions web-site. Darunavir PK Fact Sheet. 2018 [cited 2020 Dec 21]. Available from: www.hiv-druginteractions.org/prescribing_resources/hiv-pk-darunavir.
25. Agencija za lekove i medicinska sredstva Srbije. Uputstvo za lek Prezista®. 2020 [citirano 2020 Dec 21]. Dostupno na: https://www.alims.gov.rs/doc_file/lekovi/pil/515-01-04705-19-001.pdf.
26. Mouscadet JF, Tchertanov L. Raltegravir: molecular basis of its mechanism of action. *Eur J Med Res.* 2009;14 Suppl 3:5-16.
27. Cocohoba J, Dong BJ. Raltegravir: the first HIV integrase inhibitor. *Clin Ther.* 2008;30(10):1747-65.
28. Sharma M, Walmsley SL. Raltegravir as antiretroviral therapy in HIV/AIDS. *Expert Opin Pharmacother.* 2014;15(3):395-405.
29. University of Liverpool, HIV drug interactions web-site. Raltegravir PK Fact Sheet. 2016 [cited 2020 Nov 24]. Available from: www.hiv-druginteractions.org/prescribing_resources/hiv-pk-raltegravir
30. Agencija za lekove i medicinska sredstva Srbije. Uputstvo za lek Isentress®. 2020 [citirano 2020 Nov 24]. Dostupno na: https://www.alims.gov.rs/doc_file/lekovi/pil/515-01-00285-20-001.pdf.
31. The Joint United Nations Programme on HIV/AIDS (UNAIDS). Global HIV & AIDS statistics- fact sheet. [cited 2022 Jan 24] Available from: <https://www.unaids.org/en/resources/fact-sheet>.
32. The Joint United Nations Programme on HIV/AIDS (UNAIDS). Fact sheet - Latest global and regional statistics on the status of the AIDS epidemic. 2021 [cited 2022 Jan 24] Available from: https://www.unaids.org/en/resources/documents/2021/UNAIDS_FactSheet.
33. Shafer RW, Schapiro JM. HIV-1 drug resistance mutations: an updated framework for the second decade of HAART. *AIDS Rev.* 2008;10(2):67-84.
34. Cortez KJ, Maldarelli F. Clinical management of HIV drug resistance. *Viruses.* 2011;3(4):347-78.
35. Greene WC, Debyser Z, Ikeda Y, Freed EO, Stephens E, Yonemoto W, et al. Novel targets for HIV therapy. *Antiviral Res.* 2008;80(3):251-65.

36. Fernandez-Montero JV, Eugenia E, Barreiro P, Labarga P, Soriano V. Antiretroviral drug-related toxicities - clinical spectrum, prevention, and management. *Expert Opin Drug Saf.* 2013;12(5):697-707.
37. Chawla A, Wang C, Patton C, Murray M, Punekar Y, de Ruyter A, et al. A Review of Long-Term Toxicity of Antiretroviral Treatment Regimens and Implications for an Aging Population. *Infect Dis Ther.* 2018;7(2):183-95.
38. Wing EJ. HIV and aging. *Int J Infect Dis.* 2016;53:61-8.
39. Nix LM, Tien PC. Metabolic syndrome, diabetes, and cardiovascular risk in HIV. *Curr HIV/AIDS Rep.* 2014;11(3):271-8.
40. Paula AA, Falcao MC, Pacheco AG. Metabolic syndrome in HIV-infected individuals: underlying mechanisms and epidemiological aspects. *AIDS Res Ther.* 2013;10(1):32.
41. Massanella M, Fromentin R, Chomont N. Residual inflammation and viral reservoirs: alliance against an HIV cure. *Curr Opin HIV AIDS.* 2016;11(2):234-41.
42. Willig AL, Overton ET. Metabolic consequences of HIV: pathogenic insights. *Curr HIV/AIDS Rep.* 2014;11(1):35-44.
43. Mohan J, Ghazi T, Chuturgoon AA. A Critical Review of the Biochemical Mechanisms and Epigenetic Modifications in HIV- and Antiretroviral-Induced Metabolic Syndrome. *Int J Mol Sci.* 2021;22(21):12020.
44. Srinivasa S, Grinspoon SK. Metabolic and body composition effects of newer antiretrovirals in HIV-infected patients. *Eur J Endocrinol.* 2014;170(5):R185-202.
45. Masenga SK, Eljovich F, Koethe JR, Hamooya BM, Heimbürger DC, Munsaka SM, et al. Hypertension and Metabolic Syndrome in Persons with HIV. *Curr Hypertens Rep.* 2020;22(10):78.
46. Grundy SM, Cleeman JI, Merz CN, Brewer HB Jr, Clark LT, Hunninghake DB, et al. Implications of recent clinical trials for the National Cholesterol Education Program Adult Treatment Panel III Guidelines. *J Am Coll Cardiol.* 2004;44(3):720-32.
47. Nguyen KA, Peer N, Mills EJ, Kengne AP. A Meta-Analysis of the Metabolic Syndrome Prevalence in the Global HIV-Infected Population. *PLoS One.* 2016;11(3):e0150970.
48. Laila U, Akram M, Shariati MA, Hashmi AM, Akhtar N, Tahir IM, et al. Role of medicinal plants in HIV/AIDS therapy. *Clin Exp Pharmacol Physiol.* 2019;46(12):1063-73.
49. Wu JA, Attele AS, Zhang L, Yuan CS. Anti-HIV activity of medicinal herbs: usage and potential development. *Am J Chin Med.* 2001;29(1):69-81.
50. Cary DC, Peterlin BM. Natural Products and HIV/AIDS. *AIDS Res Hum Retroviruses.* 2018;34(1):31-8.
51. Ng TB, Huang B, Fong WP, Yeung HW. Anti-human immunodeficiency virus (anti-HIV) natural products with special emphasis on HIV reverse transcriptase inhibitors. *Life Sci.* 1997;61(10):933-49.
52. Cos P, Maes L, Vanden Berghe D, Hermans N, Pieters L, Vlietinck A. Plant substances as anti-HIV agents selected according to their putative mechanism of action. *J Nat Prod.* 2004;67(2):284-93.
53. Bekut M, Brkic S, Kladar N, Dragovic G, Gavaric N, Bozin B. Potential of selected Lamiaceae plants in anti(retro)viral therapy. *Pharmacol Res.* 2018;133:301-14.
54. Wang Y, Jin F, Wang Q, Suo Z. Long-Term Survival of AIDS Patients Treated with Only Traditional Chinese Medicine. *AIDS Res Hum Retroviruses.* 2017;33(2):90-2.
55. Zhao HL, Sun CZ, Jiang WP, Dai ZK, Shi WX, Yang KK, et al. Eight-year survival of AIDS patients treated with Chinese herbal medicine. *Am J Chin Med.* 2014;42(2):261-74.

56. Liu JP, Manheimer E, Yang M. Herbal medicines for treating HIV infection and AIDS. *Cochrane Database Syst Rev.* 2005;2005(3):CD003937.
57. van den Bout-van den Beukel CJ, Koopmans PP, van der Ven AJ, De Smet PA, Burger DM. Possible drug-metabolism interactions of medicinal herbs with antiretroviral agents. *Drug Metab Rev.* 2006;38(3):477-514.
58. Bordes C, Leguelinel-Blache G, Lavigne JP, Mauboussin JM, Laureillard D, Faure H, et al. Interactions between antiretroviral therapy and complementary and alternative medicine: a narrative review. *Clin Microbiol Infect.* 2020;26(9):1161-70.
59. Jin Y, Wang X, Li Z, Jiang Z, Guo H, Liu Z, et al. Survival of AIDS patients treated with traditional Chinese medicine in rural central China: a retrospective cohort study, 2004-2012. *Evid Based Complement Alternat Med.* 2015;2015:282819.
60. Liu ZB, Yang JP, Xu LR. Effectiveness and safety of traditional Chinese medicine in treating acquired immune deficiency syndrome: 2004-2014. *Infect Dis Poverty.* 2015;4:59.
61. Zou W, Wang J, Liu Y. Effect of traditional Chinese medicine for treating human immunodeficiency virus infections and acquired immune deficiency syndrome: Boosting immune and alleviating symptoms. *Chin J Integr Med.* 2016;22(1):3-8.
62. Meng Q, Liu K. Pharmacokinetic interactions between herbal medicines and prescribed drugs: focus on drug metabolic enzymes and transporters. *Curr Drug Metab.* 2014;15(8):791-807.
63. Lamorde M, Byakika-Kibwika P, Merry C. Pharmacokinetic interactions between antiretroviral drugs and herbal medicines. *Br J Hosp Med (Lond).* 2012;73(3):132-6.
64. Stolbach A, Paziana K, Heverling H, Pham P. A Review of the Toxicity of HIV Medications II: Interactions with Drugs and Complementary and Alternative Medicine Products. *J Med Toxicol.* 2015;11(3):326-41.
65. Lee LS, Andrade AS, Flexner C. Interactions between natural health products and antiretroviral drugs: pharmacokinetic and pharmacodynamic effects. *Clin Infect Dis.* 2006;43(8):1052-9.
66. University of Liverpool, HIV drug interactions web-site. Interaction Checker. [cited 2022 Jan 27] Available from: <https://www.hiv-druginteractions.org/checker>.
67. Miraj S, Rafieian K, Kiani S. *Melissa officinalis* L: A Review Study With an Antioxidant Prospective. *J Evid Based Complementary Altern Med.* 2017;22(3):385-94.
68. Shakeri A, Sahebkar A, Javadi B. *Melissa officinalis* L. - A review of its traditional uses, phytochemistry and pharmacology. *J Ethnopharmacol.* 2016;188:204-28.
69. World Health Organization (WHO). *Folium Melissa*. In: World Health Organization, editor. WHO Monograph on selected medicinal plants. 2. Geneva, Switzerland; 2002. p. 180-7.
70. Moradkhani H, Sargsyan E, Bibak H, Naseri B, Sadat-Hosseini M, Fayazi-Barjin A, et al. *Melissa officinalis* L., a valuable medicine plant: A review. *Journal of Medicinal Plants Research.* 2010;4(25):2753-9.
71. Ramasubramania Raja R. Medicinally potential plants of Labiatae (Lamiaceae) family: an overview. *Res J Med Plants.* 2012;6(3):203-13.
72. Pharmacopoea Jugoslavica IV. Editio quarta. Beograd: Savezni zavod za zdravstvenu zaštitu; 1984.
73. The Herb Society of America. Lemon Balm: An Herb Society of America Guide. 2007 [cited 2020 Sep 24]. Available from: https://www.herbsociety.org/file_download/inline/d7d790e9-c19e-4a40-93b0-8f4b45a644f1.

74. Savikin K, Zdunić G, Menković N, Zivković J, Cujic N, Tereščenko M, et al. Ethnobotanical Study on Traditional Use of Medicinal Plants in South-Western Serbia, Zlatibor District. *J Ethnopharmacol.* 2013;146(3):803-10.
75. Jarić S, Mačukanović-Jocić M, Djurdjević L, Mitrović M, Kostić O, Karadžić B, et al. An ethnobotanical survey of traditionally used plants on Suva planina mountain (south-eastern Serbia). *J Ethnopharmacol.* 2015;175:93-108.
76. Samojlik I, Mijatovic V, Gavaric N, Krstin S, Bozin B. Consumers' attitude towards the use and safety of herbal medicines and herbal dietary supplements in Serbia. *Int J Clin Pharm.* 2013;35(5):835-40.
77. Schnitzler P, Schuhmacher A, Astani A, Reichling J. *Melissa officinalis* oil affects infectivity of enveloped herpesviruses. *Phytomedicine.* 2008;15(9):734-40.
78. Nolkemper S, Reichling J, Stintzing F, Carle R, Schnitzler P. Antiviral Effect of Aqueous Extracts From Species of the Lamiaceae Family Against Herpes Simplex Virus Type 1 and Type 2 *in Vitro*. *Planta Medica.* 2006;72(15):1378-82.
79. Mazzanti G, Battinelli L, Pompeo C, Serrilli AM, Rossi R, Sauzullo I, et al. Inhibitory activity of *Melissa officinalis* L. extract on Herpes simplex virus type 2 replication. *Nat Prod Res.* 2008;22(16):1433-40.
80. Astani A, Navid MH, Schnitzler P. Attachment and penetration of acyclovir-resistant herpes simplex virus are inhibited by *Melissa officinalis* extract. *Phytother Res.* 2014;28(10):1547-52.
81. Astani A, Reichling J, Schnitzler P. *Melissa officinalis* extract inhibits attachment of herpes simplex virus *in vitro*. *Chemotherapy.* 2012;58(1):70-7.
82. Allahverdiyev A, Duran N, Ozguven M, Koltas S. Antiviral activity of the volatile oils of *Melissa officinalis* L. against Herpes simplex virus type-2. *Phytomedicine.* 2004;11(7-8):657-61.
83. Koytchev R, Alken RG, Dundarov S. Balm mint extract (Lo-701) for topical treatment of recurring herpes labialis. *Phytomedicine.* 1999;6(4):225-30.
84. Chen SG, Leu YL, Cheng ML, Ting SC, Liu CC, Wang SD, et al. Anti-enterovirus 71 activities of *Melissa officinalis* extract and its biologically active constituent rosmarinic acid. *Sci Rep.* 2017;7(1):12264.
85. Pourghanbari G, Nili H, Moattari A, Mohammadi A, Iraj A. Antiviral activity of the oseltamivir and *Melissa officinalis* L. essential oil against avian influenza A virus (H9N2). *Virusdisease.* 2016;27(2):170-8.
86. Jalali P, Moattari A, Mohammadi A, Ghazanfari N, Pourghanbari G. *Melissa officinalis* efficacy against human influenza virus (New H1N1) in comparison with oseltamivir. *Asian Pacific Journal of Tropical Disease.* 2016;6(9):714-7.
87. Yamasaki K, Nakano M, Kawahata T, Mori H, Otake T, Ueba N, et al. Anti-HIV-1 Activity of Herbs in Labiatae. *Biol Pharm Bull.* 1998;21(8):829-33.
88. Geuenich S, Goffinet C, Venzke S, Nolkemper S, Baumann I, Plinkert P, et al. Aqueous extracts from peppermint, sage and lemon balm leaves display potent anti-HIV-1 activity by increasing the virion density. *Retrovirology.* 2008;5:27.
89. Bolkent S, Yanardag R, Karabulut-Bulan O, Yesilyaprak B. Protective role of *Melissa officinalis* L. extract on liver of hyperlipidemic rats: a morphological and biochemical study. *J Ethnopharmacol.* 2005;99(3):391-8.
90. Jun HJ, Lee JH, Jia Y, Hoang MH, Byun H, Kim KH, et al. *Melissa officinalis* essential oil reduces plasma triglycerides in human apolipoprotein E2 transgenic mice by inhibiting sterol regulatory element-binding protein-1c-dependent fatty acid synthesis. *J Nutr.* 2012;142(3):432-40.

91. Karimi I, Hayatgheybi H, Razmjo M, Yousefi M, Dadyan A, Hadipour M. Anti-hyperlipidaemic Effects of an Essential Oil of *Melissa officinalis*. L in Cholesterol-fed Rabbits. Journal of Applied Biological Sciences. 2010;4(1):17-22.
92. Khodsooz S, Moshtaghian J, M E. Antihyperglycemic and antihyperlipidemic effects of hydroalcoholic extract of *Melissa officinalis* (Lemon Balm) in alloxan-induced diabetic rats. 2016.
93. Zarei A CAS, Taheri S, Rasekh F. Comparison between effects of different doses of *Melissa officinalis* and atorvastatin on the activity of liver enzymes in hypercholesterolemia rats. Avicenna J Phytomed. 2014;4(1):15-23.
94. Changizi Ashtiyani S, Zarei A, S. T, A. R, Golshan M, Ghafarzadegan R. A Comparative Study of Hypolipidemic Activities of the Extracts of *Melissa officinalis* and *Berberis vulgaris* in Rats. Journal of Medicinal Plants. 2013;12(47):38-47.
95. Park BY, Lee H, Woo S, Yoon M, Kim J, Hong Y, et al. Reduction of Adipose Tissue Mass by the Angiogenesis Inhibitor ALS-L1023 from *Melissa officinalis*. PLoS One. 2015;10(11):e0141612.
96. Tashakor A, Rezaei Kelishadi M, Ghasemi A, Daylami F, Rahimi A, Zamani Doabi S, et al. Effects of hydroalcoholic extract in *Melissa officinalis* plant on fat profiles and glucose level in diabetic rats induced by streptozotocin. Journal of Chemical and Pharmaceutical Research. 2016;8(4):402-6.
97. Chung MJ, Cho SY, Bhuiyan MJ, Kim KH, Lee SJ. Anti-diabetic effects of lemon balm (*Melissa officinalis*) essential oil on glucose- and lipid-regulating enzymes in type 2 diabetic mice. Br J Nutr. 2010;104(2):180-8.
98. Fazli D, Malekirad AA, Pilevarian AA, Salehi H, Zeraatpishe A, Rahzani K, et al. Effects of *Melissa officinalis* L. on Oxidative Status and Biochemical Parameters in Occupationally Exposed Workers to Aluminum: A Before after Clinical Trial. Int J Pharmacol. 2012;8:455-8.
99. Nayebi N, Esteghamati A, Meysamie A, Khalili N, Kamalinejad M, Emtiazy M, et al. The effects of a *Melissa officinalis* L. based product on metabolic parameters in patients with type 2 diabetes mellitus: A randomized double-blinded controlled clinical trial. J Complement Integr Med. 2019;16(3):20180088.
100. Kheirkhah J, Ghorbani Z, Salari A, Mahdavi-Roshan M, Gholipour M, Vakilpour A, et al. *Melissa officinalis* tea favourably affects the frequency of premature ventricular beats and cardiometabolic profile among patients with premature ventricular contraction: A randomised open-label controlled trial. Int J Clin Pract. 2021;75(10):e14644.
101. Jandaghi P, Noroozi M, Ardalani H, Alipour M. Lemon balm: A promising herbal therapy for patients with borderline hyperlipidemia-A randomized double-blind placebo-controlled clinical trial. Complement Ther Med. 2016;26:136-40.
102. Asadi A, Shidfar F, Safari M, Malek M, Hosseini AF, Rezazadeh S, et al. Safety and efficacy of *Melissa officinalis* (lemon balm) on ApoA-I, Apo B, lipid ratio and ICAM-1 in type 2 diabetes patients: A randomized, double-blinded clinical trial. Complement Ther Med. 2018;40:83-8.
103. Hasanein P, Riahi H. Antinociceptive and antihyperglycemic effects of *Melissa officinalis* essential oil in an experimental model of diabetes. Med Princ Pract. 2015;24(1):47-52.
104. Golkhani S, Modaresi M, Majlesi M. The effect of balm's hydro alcoholic extract on activity of liver enzymes and liver tissue. Research Journal of Applied Sciences. 2013;8(9):435-8.
105. Canadanovic-Brunet J, Cetkovic G, Djilas S, Tumbas V, Bogdanovic G, Mandic A, et al. Radical scavenging, antibacterial, and antiproliferative activities of *Melissa officinalis* L. extracts. J Med Food. 2008;11(1):133-43.

106. Birdane YO, M. E. Büyükokuroglu ME, Birdane FM, Cemek M, Yavuz H. Anti-inflammatory and antinociceptive effects of *Melissa officinalis* L. in rodents. *Revue Med Vet.* 2007;158(2):75-81.
107. Ghazizadeh J, Hamedeyazdan S, Torbati M, Farajdokht F, Fakhari A, Mahmoudi J, et al. *Melissa officinalis* L. hydro-alcoholic extract inhibits anxiety and depression through prevention of central oxidative stress and apoptosis. *Exp Physiol.* 2020;105(4):707-20.
108. Bilen S, Altief TAS, Ozdemir KY, Salem MOA, Terzi E, Guney K. Effect of lemon balm (*Melissa officinalis*) extract on growth performance, digestive and antioxidant enzyme activities, and immune responses in rainbow trout (*Oncorhynchus mykiss*). *Fish Physiol Biochem.* 2020;46(1):471-81.
109. Martins EN, Pessano NT, Leal L, Roos DH, Folmer V, Puntel GO, et al. Protective effect of *Melissa officinalis* aqueous extract against Mn-induced oxidative stress in chronically exposed mice. *Brain Res Bull.* 2012;87(1):74-9.
110. Bayat M, Azami Tameh A, Hossein Ghahremani M, Akbari M, Mehr SE, Khanavi M, et al. Neuroprotective properties of *Melissa officinalis* after hypoxic-ischemic injury both *in vitro* and *in vivo*. *Daru.* 2012;20(1):42.
111. Zeraatpishe A, Oryan S, Baghaei MH, Pilevarian AA, Malekirad AA, Baeeri M, et al. Effects of *Melissa officinalis* L. on oxidative status and DNA damage in subjects exposed to long-term low-dose ionizing radiation. *Toxicology and Industrial Health.* 2010;27(3):205-12.
112. Ministarstvo zdravlja Republike Srbije. Dijetetski proizvodi. 2018 [citirano 2020 Aug 30] Dostupno na: <https://www.zdravlje.gov.rs/tekst/345415/dijetetski-proizvodi.php>.
113. Ulbricht C, Brendler T, Gruenwald J, Kligler B, Keifer D, Abrams TR, et al. Lemon balm (*Melissa officinalis* L.): an evidence-based systematic review by the Natural Standard Research Collaboration. *J Herb Pharmacother.* 2005;5(4):71-114.
114. European Medicines Agency (EMA). Assessment report on *Melissa officinalis* L., folium. 2013 [cited 2020 Aug 30]. Available from: https://www.ema.europa.eu/en/documents/herbal-report/final-assessment-reportmelissa-officinalis-l-folium_en.pdf.
115. United States Food and Drug Administration (FDA). Food for human consumption, substances generally recognized as safe. 2021 [cited 2021 Jan 21]. Available from: <https://www.accessdata.fda.gov/scripts/cdrh/cfdocs/cfcfr/cfrsearch.cfm?fr=182.20>.
116. Jia JY, Lu YL, Li XC, Liu GY, Li SJ, Liu Y, et al. Pharmacokinetics of depside salts from *Salvia miltiorrhiza* in healthy Chinese volunteers: A randomized, open-label, single-dose study. *Curr Ther Res Clin Exp.* 2010;71(4):260-71.
117. Noguchi-Shinohara M, Ono K, Hamaguchi T, Iwasa K, Nagai T, Kobayashi S, et al. Pharmacokinetics, Safety and Tolerability of *Melissa officinalis* Extract which Contained Rosmarinic Acid in Healthy Individuals: A Randomized Controlled Trial. *PLoS One.* 2015;10(5):e0126422.
118. Javid AZ, Haybar H, Dehghan P, Haghighizadeh MH, Mohaghegh SM, Ravanbakhsh M, et al. The effects of *Melissa officinalis* (lemon balm) in chronic stable angina on serum biomarkers of oxidative stress, inflammation and lipid profile. *Asia Pac J Clin Nutr.* 2018;27(4):785-91.
119. Santini F, Vitti P, Ceccarini G, Mammoli C, Rosellini V, Pelosini C, et al. *In vitro* assay of thyroid disruptors affecting TSH-stimulated adenylate cyclase activity. *J Endocrinol Invest.* 2003;26(10):950-5.
120. Pan Y, Abd-Rashid BA, Ismail Z, Ismail R, Mak JW, Pook PC, et al. *In vitro* effects of active constituents and extracts of *Orthosiphon stamineus* on the activities of three major human cDNA-expressed cytochrome P450 enzymes. *Chem Biol Interact.* 2011;190(1):1-8.

121. Li FR, Fu YY, Jiang DH, Wu Z, Zhou YJ, Guo L, et al. Reversal effect of rosmarinic acid on multidrug resistance in SGC7901/Adr cell. *J Asian Nat Prod Res.* 2013;15(3):276-85.
122. Mimica-Dukic N, Bozin B, Sokovic M, Simin N. Antimicrobial and antioxidant activities of *Melissa officinalis* L. (Lamiaceae) essential oil. *J Agric Food Chem.* 2004;52(9):2485-9.
123. Jager S, Trojan H, Kopp T, Laszczyk MN, Scheffler A. Pentacyclic triterpene distribution in various plants - rich sources for a new group of multi-potent plant extracts. *Molecules.* 2009;14(6):2016-31.
124. Wozniak L, Skapska S, Marszalek K. Ursolic Acid--A Pentacyclic Triterpenoid with a Wide Spectrum of Pharmacological Activities. *Molecules.* 2015;20(11):20614-41.
125. Szabo K, Radacsi P, Rajhart P, Ladanyi M, Nemeth E. Stress-induced changes of growth, yield and bioactive compounds in lemon balm cultivars. *Plant Physiol Biochem.* 2017;119:170-7.
126. El-Seedi HR, El-Said AM, Khalifa SA, Goransson U, Bohlin L, Borg-Karlson AK, et al. Biosynthesis, natural sources, dietary intake, pharmacokinetic properties, and biological activities of hydroxycinnamic acids. *J Agric Food Chem.* 2012;60(44):10877-95.
127. Alam MA, Subhan N, Hossain H, Hossain M, Reza HM, Rahman MM, et al. Hydroxycinnamic acid derivatives: a potential class of natural compounds for the management of lipid metabolism and obesity. *Nutr Metab (Lond).* 2016;13:27.
128. Petersen M, Abdullah Y, Benner J, Eberle D, Gehlen K, Hucherig S, et al. Evolution of rosmarinic acid biosynthesis. *Phytochemistry.* 2009;70(15-16):1663-79.
129. Petersen M, Simmonds MS. Rosmarinic acid. *Phytochemistry.* 2003;62(2):121-5.
130. Amoah SK, Sandjo LP, Kratz JM, Biavatti MW. Rosmarinic Acid--Pharmaceutical and Clinical Aspects. *Planta Med.* 2016;82(5):388-406.
131. Dewick P. Medicinal natural products: a biosynthetic approach. New York: Wiley; 2009.
132. Sik B, Kapszándi V, Székelyhidi R, Hanczné E, Ajtony Z. Recent Advances in the Analysis of Rosmarinic Acid From Herbs in the Lamiaceae Family. *Nat Prod Commun.* 2019;14(7):1-10.
133. Nunes S, Madureira AR, Campos D, Sarmiento B, Gomes AM, Pintado M, et al. Therapeutic and nutraceutical potential of rosmarinic acid--Cytoprotective properties and pharmacokinetic profile. *Crit Rev Food Sci Nutr.* 2017;57(9):1799-806.
134. Alagawany M, Abd El-Hack ME, Farag MR, Gopi M, Karthik K, Malik YS, et al. Rosmarinic acid: modes of action, medicinal values and health benefits. *Anim Health Res Rev.* 2017;18(2):167-76.
135. Hitl M, Kladar N, Gavaric N, Bozin B. Rosmarinic Acid--Human Pharmacokinetics and Health Benefits. *Planta Med.* 2021;87(4):273-82.
136. Lee J, Jung E, Koh J, Kim YS, Park D. Effect of rosmarinic acid on atopic dermatitis. *J Dermatol.* 2008;35(12):768-71.
137. Connelly AE, Tucker AJ, Tulk H, Catapang M, Chapman L, Sheikh N, et al. High-rosmarinic acid spearmint tea in the management of knee osteoarthritis symptoms. *J Med Food.* 2014;17(12):1361-7.
138. Falcone PH, Tribby AC, Vogel RM, Joy JM, Moon JR, Slayton CA, et al. Efficacy of a nootropic spearmint extract on reactive agility: a randomized, double-blind, placebo-controlled, parallel trial. *J Int Soc Sports Nutr.* 2018;15(1):58.
139. Herrlinger KA, Nieman KM, Sanoshy KD, Fonseca BA, Lasrado JA, Schild AL, et al. Spearmint Extract Improves Working Memory in Men and Women with Age-Associated Memory Impairment. *J Altern Complement Med.* 2018;24(1):37-47.
140. Stelmakiene A, Ramanauskiene K, Briedis V. Release of rosmarinic acid from semisolid formulations and its penetration through human skin *ex vivo*. *Acta Pharm.* 2015;65(2):199-205.

141. Budhiraja A, Dhingra G. Development and characterization of a novel antiacne niosomal gel of rosmarinic acid. *Drug Deliv.* 2015;22(6):723-30.
142. Bhatt R, Singh D, Prakash A, Mishra N. Development, characterization and nasal delivery of rosmarinic acid-loaded solid lipid nanoparticles for the effective management of Huntington's disease. *Drug Deliv.* 2015;22(7):931-9.
143. Lu P, Xing Y, Xue Z, Ma Z, Zhang B, Peng H, et al. Pharmacokinetics of salvianolic acid B, rosmarinic acid and Danshensu in rat after pulmonary administration of *Salvia miltiorrhiza* polyphenolic acid solution. *Biomed Chromatogr.* 2019;33(8):e4561.
144. da Silva SB, Ferreira D, Pintado M, Sarmiento B. Chitosan-based nanoparticles for rosmarinic acid ocular delivery--*In vitro* tests. *Int J Biol Macromol.* 2016;84:112-20.
145. Goncalves GA, Correa RCG, Barros L, Dias MI, Calhelha RC, Correa VG, et al. Effects of *in vitro* gastrointestinal digestion and colonic fermentation on a rosemary (*Rosmarinus officinalis* L) extract rich in rosmarinic acid. *Food Chem.* 2019;271:393-400.
146. Bel-Rhliid R, Crespy V, Page-Zoerkler N, Nagy K, Raab T, Hansen CE. Hydrolysis of rosmarinic acid from rosemary extract with esterases and *Lactobacillus johnsonii* *in vitro* and in a gastrointestinal model. *J Agric Food Chem.* 2009;57(17):7700-5.
147. Dominguez-Avila JA, Wall-Medrano A, Velderrain-Rodriguez GR, Chen CO, Salazar-Lopez NJ, Robles-Sanchez M, et al. Gastrointestinal interactions, absorption, splanchnic metabolism and pharmacokinetics of orally ingested phenolic compounds. *Food Funct.* 2017;8(1):15-38.
148. Baba S, Osakabe N, Natsume M, Yasuda A, Muto Y, Hiyoshi K, et al. Absorption, metabolism, degradation and urinary excretion of rosmarinic acid after intake of *Perilla frutescens* extract in humans. *Eur J Nutr.* 2005;44(1):1-9.
149. Chen JF, Bao X, Lin C, Zhou G. Pharmacokinetics of rosmarinic acid in rats and tissue distribution in mice. *Lat Am J Pharm.* 2019;38(5):985-90.
150. Hase T, Shishido S, Yamamoto S, Yamashita R, Nukima H, Taira S, et al. Rosmarinic acid suppresses Alzheimer's disease development by reducing amyloid beta aggregation by increasing monoamine secretion. *Sci Rep.* 2019;9(1):8711.
151. Kladar N, Srđenović B, Grujić N, Bokić B, Rat M, Anačkov G, et al. Ecologically and ontogenetically induced variations in phenolic compounds and biological activities of *Hypericum maculatum* subsp. *maculatum*, Hypericaceae. *Braz J Bot.* 2015;38(4):703-15.
152. Salaj N, Kladar N, Srdenovic Conic B, Jeremic K, Barjaktarović J, Hitl M, et al. Stabilization of sunflower and olive oils with savory (*Satureja kitaibelii*, Lamiaceae). *J Food Nutr Res.* 2020;59:259-71.
153. Kladar N, Mrdanovic J, Anackov G, Solajic S, Gavaric N, Srdenovic B, et al. *Hypericum perforatum*: Synthesis of Active Principles during Flowering and Fruitification--Novel Aspects of Biological Potential. *Evid Based Complement Alternat Med.* 2017;2017:2865610.
154. de Oliveira K, de Oliveira B. HPLC/DAD Determination of Rosmarinic Acid in *Salvia officinalis*: Sample Preparation Optimization by Factorial Design. *J Braz Chem Soc.* 2013;24(1):85-91.
155. D'Avolio A, Siccardi M, Sciandra M, Baietto L, Bonora S, Trentini L, et al. HPLC-MS method for the simultaneous quantification of the new HIV protease inhibitor darunavir, and 11 other antiretroviral agents in plasma of HIV-infected patients. *J Chromatogr B Analyt Technol Biomed Life Sci.* 2007;859(2):234-40.

156. Jelic M, Mandic A, Kladar N, Sudji J, Bozin B, Srdjenovic B. Lipid Peroxidation, Antioxidative Defense and Level of 8-hydroxy-2-deoxyguanosine in Cervical Cancer Patients. *J Med Biochem*. 2018;37(3):336-45.
157. Khoschsorur GA, Winklhofer-Roob BM, Rabl H, Auer T, Peng Z, Schaur RJ. Evaluation of a sensitive HPLC method for the determination of Malondialdehyde, and application of the method to different biological materials. *Chromatographia*. 2000;52:181-4.
158. World Health Organization (WHO). A healthy lifestyle- WHO Recommendations. 2010 [cited 2021 Sep 30]. Available from: <https://www.euro.who.int/en/health-topics/disease-prevention/nutrition/a-healthy-lifestyle/body-mass-index-bmi>.
159. Ramanauskienė K, Raudonis R, Majiene D. Rosmarinic Acid and *Melissa officinalis* Extracts Differently Affect Glioblastoma Cells. *Oxid Med Cell Longev*. 2016;2016:1564257.
160. Xavier CP, Lima CF, Fernandes-Ferreira M, Pereira-Wilson C. *Salvia fruticosa*, *Salvia officinalis*, and rosmarinic acid induce apoptosis and inhibit proliferation of human colorectal cell lines: the role in MAPK/ERK pathway. *Nutr Cancer*. 2009;61(4):564-71.
161. Mogatle S, Skinner M, Mills E, Kanfer I. Effect of African potato (*Hypoxis hemerocallidea*) on the pharmacokinetics of efavirenz. *S Afr Med J*. 2008;98(12):945-9.
162. Gwaza L, Aweeka F, Greenblatt R, Lizak P, Huang L, Guglielmo BJ. Co-administration of a commonly used Zimbabwean herbal treatment (African potato) does not alter the pharmacokinetics of lopinavir/ritonavir. *Int J Infect Dis*. 2013;17(10):e857-61.
163. Muller AC, Skinner MF, Kanfer I. Effect of the African Traditional Medicine, *Sutherlandia frutescens*, on the Bioavailability of the Antiretroviral Protease Inhibitor, Atazanavir. *Evid Based Complement Alternat Med*. 2013;2013:324618.
164. Paun G, Neagu E, Albu C, Savin S, Radu GL. *In Vitro* Evaluation of Antidiabetic and Anti-Inflammatory Activities of Polyphenolic-Rich Extracts from *Anchusa officinalis* and *Melilotus officinalis*. *ACS Omega*. 2020;5(22):13014-22.
165. McCue P, Vatter D, Shetty K. Inhibitory effect of clonal oregano extracts against porcine pancreatic amylase *in vitro*. *Asia Pac J Clin Nutr*. 2004;13(4):401-8.
166. McCue PP, Shetty K. Inhibitory effects of rosmarinic acid extracts on porcine pancreatic amylase *in vitro*. *Asia Pac J Clin Nutr*. 2004;13(1):101-6.
167. Tolmie M, Bester MJ, Apostolides Z. Inhibition of alpha-glucosidase and alpha-amylase by herbal compounds for the treatment of type 2 diabetes: A validation of *in silico* reverse docking with *in vitro* enzyme assays. *J Diabetes*. 2021;13(10):779-91.
168. Velderrain-Rodriguez GR, Palafox-Carlos H, Wall-Medrano A, Ayala-Zavala JF, Chen CY, Robles-Sanchez M, et al. Phenolic compounds: their journey after intake. *Food Funct*. 2014;5(2):189-97.
169. Mosele JI, Martin-Pelaez S, Macia A, Farras M, Valls RM, Catalan U, et al. Study of the catabolism of thyme phenols combining *in vitro* fermentation and human intervention. *J Agric Food Chem*. 2014;62(45):10954-61.
170. de Torre MP, Vizmanos JL, Cavero RY, Calvo MI. Improvement of antioxidant activity of oregano (*Origanum vulgare* L.) with an oral pharmaceutical form. *Biomed Pharmacother*. 2020;129:110424.
171. Blazevic T, Reznicek G, Ding L, Yang G, Haiss P, Heiss EH, et al. Short Chain ($\leq C4$) Esterification Increases Bioavailability of Rosmarinic Acid and Its Potency to Inhibit Vascular Smooth Muscle Cell Proliferation. *Front Pharmacol*. 2020;11:609756.

172. Veras KS, Fachel FNS, Teixeira HF, Koester LS. Technological strategies applied for rosmarinic acid delivery through different routes- A review. *Journal of Drug Delivery Science and Technology*. 2022;68.
173. Nieman KM, Sanoshy KD, Bresciani L, Schild AL, Kelley K, Lawless A, et al. Tolerance, bioavailability, and potential cognitive health implications of a distinct aqueous spearmint extract. *Funct Food Health Dis*. 2015;5(5):165-87.
174. Punyawudho B, Singkham N, Thammajarak N, Dalodom T, Kerr SJ, Burger DM, et al. Therapeutic drug monitoring of antiretroviral drugs in HIV-infected patients. *Expert Rev Clin Pharmacol*. 2016;9(12):1583-95.
175. Molto J, Valle M, Miranda C, Cedeno S, Negro E, Barbanj MJ, et al. Herb-drug interaction between *Echinacea purpurea* and darunavir-ritonavir in HIV-infected patients. *Antimicrob Agents Chemother*. 2011;55(1):326-30.
176. Molto J, Valle M, Miranda C, Cedeno S, Negro E, Clotet B. Effect of milk thistle on the pharmacokinetics of darunavir-ritonavir in HIV-infected patients. *Antimicrob Agents Chemother*. 2012;56(6):2837-41.
177. Blonk M, Colbers A, Poirters A, Schouwenberg B, Burger D. Effect of ginkgo biloba on the pharmacokinetics of raltegravir in healthy volunteers. *Antimicrob Agents Chemother*. 2012;56(10):5070-5.
178. Wiegman DJ, Brinkman K, Franssen EJ. Interaction of *Ginkgo biloba* with efavirenz. *AIDS*. 2009;23(9):1184-5.
179. Naccarato M, Yoong D, Gough K. A potential drug-herbal interaction between *Ginkgo biloba* and efavirenz. *J Int Assoc Physicians AIDS Care (Chic)*. 2012;11(2):98-100.
180. Cloarec N, Solas C, Ladaïque A, Tamalet C, Zaegel-Faucher O, Bregigéon S, et al. Sub-therapeutic darunavir concentration and garlic consumption; a <<Mediterranean>> drug-food interaction, about 2 cases. *Eur J Clin Pharmacol*. 2017;73(10):1331-3.
181. Cordova E, Morganti L, Rodriguez C. Possible Drug-Herb Interaction between Herbal Supplement Containing Horsetail (*Equisetum arvense*) and Antiretroviral Drugs. *J Int Assoc Provid AIDS Care*. 2017;16(1):11-3.
182. Okoye AA, Picker LJ. CD4(+) T-cell depletion in HIV infection: mechanisms of immunological failure. *Immunol Rev*. 2013;254(1):54-64.
183. Burack JH, Cohen MR, Hahn JA, Abrams DI. Pilot randomized controlled trial of Chinese herbal treatment for HIV-associated symptoms. *J Acquir Immune Defic Syndr Hum Retrovirol*. 1996;12(4):386-93.
184. Li X, Li H, Li C, Xia W, Li A, Li W. Traditional Chinese Medicine Can Improve the Immune Reconstruction of HIV/AIDS Patients. *AIDS Res Hum Retroviruses*. 2020;36(4):258-9.
185. Onifadee AA, Jewel AP, Okesina AB. Virologic and immunologic outcome of treatment of HIV infection with a herbal concoction, alpha-Zam, among clients seeking herbal remedy in Nigeria. *Afr J Tradit Complement Altern Med*. 2011;8(1):37-44.
186. Petrilli AA, Souza SJ, Teixeira AM, Pontilho PM, Souza JM, Luzia LA, et al. Effect of Chocolate and Yerba Mate Phenolic Compounds on Inflammatory and Oxidative Biomarkers in HIV/AIDS Individuals. *Nutrients*. 2016;8(5):132.
187. Souza SJ, Petrilli AA, Teixeira AM, Pontilho PM, Carioca AA, Luzia LA, et al. Effect of chocolate and mate tea on the lipid profile of individuals with HIV/AIDS on antiretroviral therapy: A clinical trial. *Nutrition*. 2017;43-44:61-8.

188. Silva TAL, Medeiros DC, Medeiros G, Medeiros R, de Souza Araujo J, Medeiros JA, et al. Influence of curcumin supplementation on metabolic and lipid parameters of people living with HIV/AIDS: a randomized controlled trial. *BMC Complement Altern Med.* 2019;19(1):202.
189. Pizzino G, Irrera N, Cucinotta M, Pallio G, Mannino F, Arcoraci V, et al. Oxidative Stress: Harms and Benefits for Human Health. *Oxid Med Cell Longev.* 2017;2017:8416763.
190. Sharma B. Oxidative stress in HIV patients receiving antiretroviral therapy. *Curr HIV Res.* 2014;12(1):13-21.
191. Popoola TD, Awodele O. Interplay between antiretroviral therapy and oxidative stress in HIV seropositive patients. *Afr J Med Med Sci.* 2016;45(1):5-21.
192. Djohan Y, Camara C, Monde A, Koffi G, Niamke G, Dere L, et al. [Interest of antioxidants in the care of the patients infected by the HIV: the experience of long term administration of *Alternanthera pungens* herb tea]. *Ann Biol Clin (Paris).* 2009;67(5):563-8.
193. Winter FS, Emakam F, Kfutwah A, Hermann J, Azabji-Kenfack M, Krawinkel MB. The effect of *Arthrospira platensis* capsules on CD4 T-cells and antioxidative capacity in a randomized pilot study of adult women infected with human immunodeficiency virus not under HAART in Yaounde, Cameroon. *Nutrients.* 2014;6(7):2973-86.
194. Figueira MS, Sa LA, Vasconcelos AS, Moreira DR, Laurindo PS, Ribeiro DR, et al. Nutritional supplementation with the mushroom *Agaricus sylvaticus* reduces oxidative stress in children with HIV. *Can J Infect Dis Med Microbiol.* 2014;25(5):257-64.
195. Pan X, Zhang A, Henderson GE, Rennie S, Liu C, Cai W, et al. Traditional, complementary, and alternative medical cures for HIV: rationale and implications for HIV cure research. *Glob Public Health.* 2019;14(1):152-60.

ПРИЛОЗИ

Прилог 1. Упутство пацијентима испитиваних група.

Прилог 2. Упутство пацијентима контролних група.

Прилог 3. Анкета о утисцима употребе матичњака.

Прилог 4. Хроматограм анализираног дијететског суплемента на бази екстракта матичњака.

Прилог 5. Пример хроматограма анализираног дијететског суплемента на бази екстракта матичњака након ферментације.

Прилог 6. Пример хроматограма анализе розмаринске киселине у плазми пацијената.

Прилог 7. Примери хроматограма анализе лекова у плазми пацијената.

Прилог 8. Пример хроматограма анализе TBARS у хемолизату пацијената.

Прилог 1. Упутство пацијентима испитиваних група.**UPUTSTVO PACIJENTU
-ispitivana grupa-**

Detaljnije uputstvo i informacije o ispitivanju delotvornosti (lekovitosti) biljke matičnjak date su u Informacijama za pacijenta. Ovo uputstvo daje informacije o neophodnim postupcima kako pravilno postupiti u cilju dobijanja ispravnih rezultata.

PRE POČETKA ISPITIVANJA

- Pre početka ispitivanja, antiretrovirusnu terapiju uzimate na način kako Vam je lekar prepisao.
- Zabeležite datum i vreme uzimanja lekova. Neophodno je ne unosite ništa od hrane i pića (sem vode) tokom minimum 8 sati.
- Sutradan, dođite na vađenje krvi.
- Ukoliko se Vaši lekovi uzimaju dva puta dnevno (ujutro i uveče) **NEMOJTE** popiti jutarnju dozu lekova. Lekove ponesite sa sobom; popićete ih odmah nakon vađenja krvi.
- Od svog lekara ćete dobiti preparat matičnjaka, sa čijim uzimanjem počinjete istog dana kad Vam je izvađena krv.

U TOKU ISPITIVANJA

- U toku ispitivanja, antiretrovirusnu terapiju uzimate na način kako Vam je lekar prepisao.
- Pravilan način uzimanja matičnjaka podrazumeva: uzimanje večernje doze lekova, razmak od minimum 45 minuta, uzimanje matičnjaka.
- Predviđena doza je dve kapsule matičnjaka, svako veče, tokom 12 nedelja.
- U toku ispitivanja, neophodno je obustaviti ili maksimalno smanjiti upotrebu biljaka srodnih matičnjaku (poput nane/mente, žalfije, ruzmarina, timijana, origana, bosiljka, lavande) ili bilo koje druge lekovite biljke (npr. kantariona, valerijane, ehinacee, belog luka, grejpfruta, ginko bilobe, mačje kandže, hmelja).

NA KRAJU ISPITIVANJA

- Kraj ispitivanja je po isteku 12 nedelja od prvog uzimanja preparata matičnjaka.
- Veče pred vađenje krvi, poslednji put uzimate matičnjak, na isti način kao i u prethodnom periodu (večernja doza lekova, 45 minuta razmaka, preparat matičnjaka).
- Zabeležite datum i vreme uzimanja lekova. Neophodno je ne unosite ništa od hrane i pića (sem vode) tokom minimum 8 sati.
- Sutradan, dođite na vađenje krvi.

- Ukoliko se Vaši lekovi uzimaju dva puta dnevno (ujutro i uveče) **NEMOJTE** popiti jutarnju dozu lekova. Lekove ponesite sa sobom; popićete ih odmah nakon vađenja krvi.
- Saopštite lekaru utiske o upotrebi matičnjaka. Donesite prazne kutije matičnjaka svom lekaru.
- Ovim je Vaš deo u ispitivanju završen.
- Nadalje, antiretrovirusnu terapiju uzimate na način kako Vam je lekar prepisao.

DATUM POČETKA

DATUM ZAVRŠETKA

Прилог 2. Упутство пацијентима контролних група.**UPUTSTVO PACIJENTU
-kontrolna grupa-**

Detaljnije uputstvo i informacije o ispitivanju delotvornosti (lekovitosti) biljke matičnjak date su u Informacijama za pacijenta. Ovo uputstvo daje informacije o neophodnim postupcima kako pravilno postupiti u cilju dobijanja ispravnih rezultata.

PRE POČETKA ISPITIVANJA

- Pre početka ispitivanja, antiretrovirusnu terapiju uzimate na način kako Vam je lekar prepisao.
- Zabeležite datum i vreme uzimanja lekova. Neophodno je ne unosite ništa od hrane i pića (sem vode) tokom minimum 8 sati.
- Sutradan, dođite na vađenje krvi.
- Ukoliko se Vaši lekovi uzimaju dva puta dnevno (ujutro i uveče) **NEMOJTE** popiti jutarnju dozu lekova. Lekove ponesite sa sobom; popićete ih odmah nakon vađenja krvi.

U TOKU ISPITIVANJA

- U toku ispitivanja, antiretrovirusnu terapiju uzimate na način kako Vam je lekar prepisao.
- U toku ispitivanja, neophodno je obustaviti ili maksimalno smanjiti upotrebu biljaka srodnih matičnjaku (poput nane/mente, žalfije, ruzmarina, timijana, origana, bosiljka, lavande) ili bilo koje druge lekovite biljke (npr. kantariona, valerijane, ehinacee, belog luka, grejpfruta, ginko bilobe, mačje kandže, hmelja).

NA KRAJU ISPITIVANJA

- Kraj ispitivanja je po isteku 12 nedelja.
- Veče pred vađenje krvi, zabeležite datum i vreme uzimanja lekova. Neophodno je ne unosite ništa od hrane i pića (sem vode) tokom minimum 8 sati.
- Sutradan, dođite na vađenje krvi.
- Ukoliko se Vaši lekovi uzimaju dva puta dnevno (ujutro i uveče) **NEMOJTE** popiti jutarnju dozu lekova. Lekove ponesite sa sobom; popićete ih odmah nakon vađenja krvi.
- Ovim je Vaš deo u ispitivanju završen.
- Nadalje, antiretrovirusnu terapiju uzimate na način kako Vam je lekar prepisao.

DATUM POČETKA

DATUM ZAVRŠETKA

Прилог 3. Анкета о утисцима употребе матичњака.

ANKETA- UTISAK O KORIŠĆENJU MATIČNJAKA

šifra u ispitivanju

-POPUNJAVA LEKAR-

1. Opšta ocena primene matičnjaka:

1. pozitivna, verujem da je doprineo poboljšanju mog zdravstvenog stanja
2. neutralna, nisam zapazio neke promene u svom zdravstvenom stanju
3. negativna, verujem da je primena matičnjaka bila štetna po mene

2. Da li ste приметили неке промене:

1. lakše nastupanje sna
2. smanjenje nervoze i napetosti
3. poboljšanje varenja
4. ostalo, navedite: _____

3. Da li biste ponovo koristili matičnjak?

DA MOŽDA NE

4. Ukoliko su Vaši odgovori na prethodno pitanje da ili možda, da li planirate da se konsultujete sa svojim lekarom pre primene matičnjaka?

DA MOŽDA NE

5. Da li ste pre ovog ispitivanja čuli za biljku matičnjak?

DA MOŽDA NE

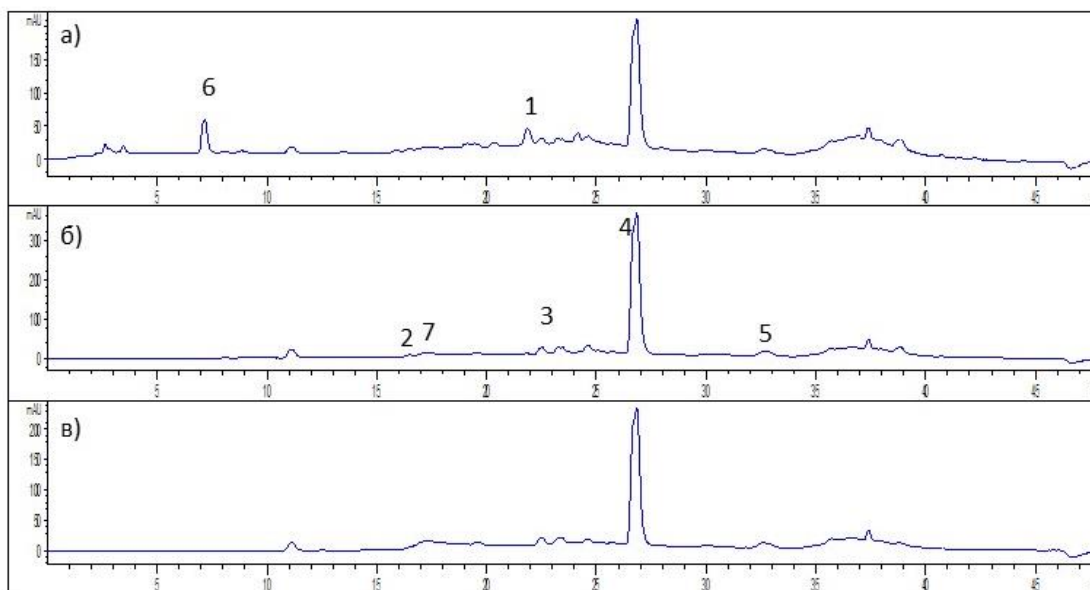
6. Da li ste pre ovog ispitivanja koristili biljku matičnjak?

DA MOŽDA NE

7. Postoji li nešto što Vas nismo pitali, a smatrate da je bitno da nam saopštite?

Hvala Vam na izdvojenom vremenu!

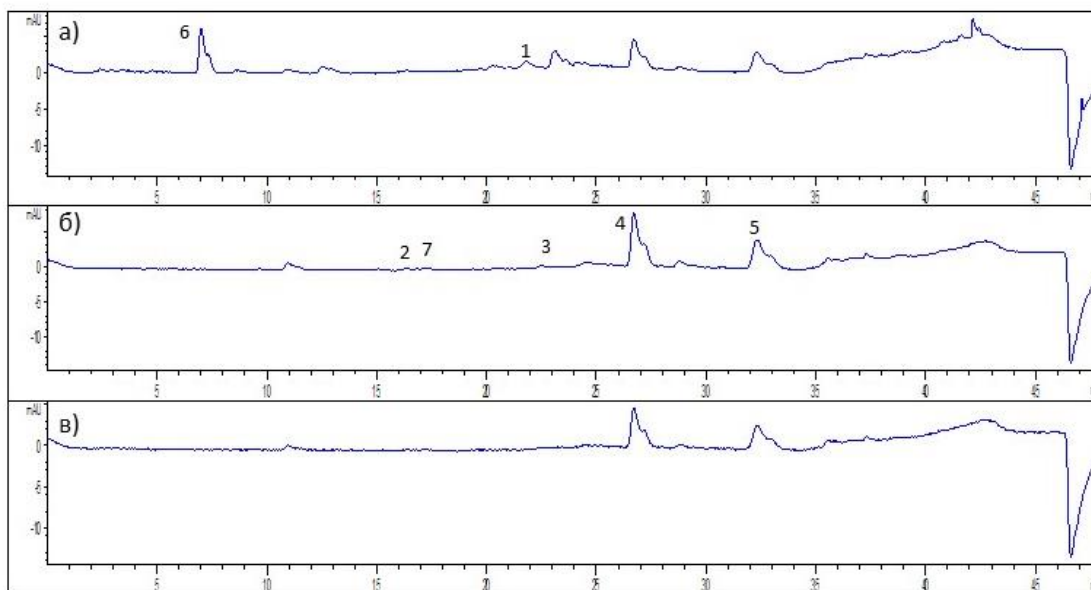
Прилог 4. Хроматограм анализираног дијететског суплемента на бази екстракта матичњака.



Хроматограм анализираног препарата матичњака са детекцијом на а) 280 nm, б) 330 nm и в) 350 nm.

Идентификована једињења: 1-кафена киселина, 2- *p*-кумаринска киселина, 3- хлорогенска киселина, 4- розмаринска киселина, 5- ферулна киселина, 6- гална киселина, 6- кверцетин.

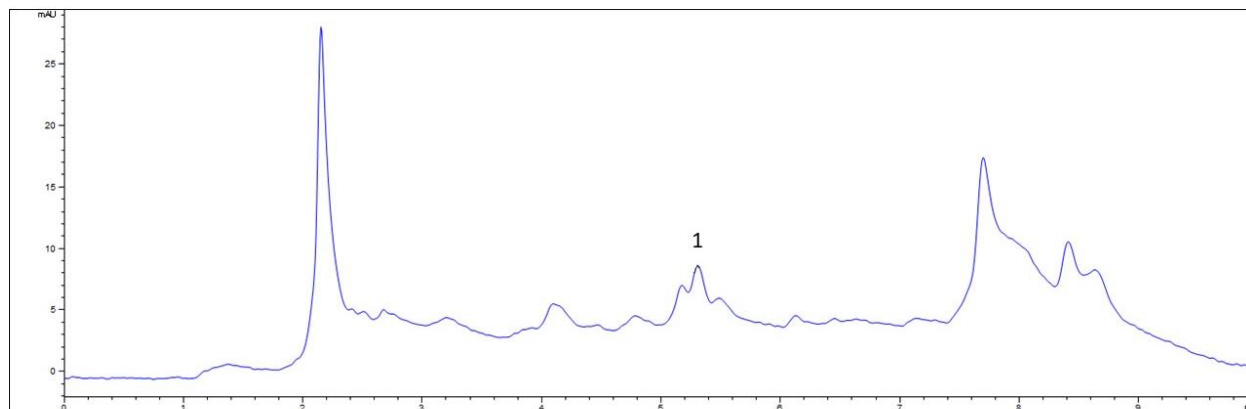
Прилог 5. Пример хроматограма анализаног дијететског суплемента на бази екстракта матичњака након ферментације.



Хроматограм анализаног екстракта матичњака након ферментације пробиотиком П5 са детекцијом на а) 280 nm, б) 330 nm и в) 350 nm.

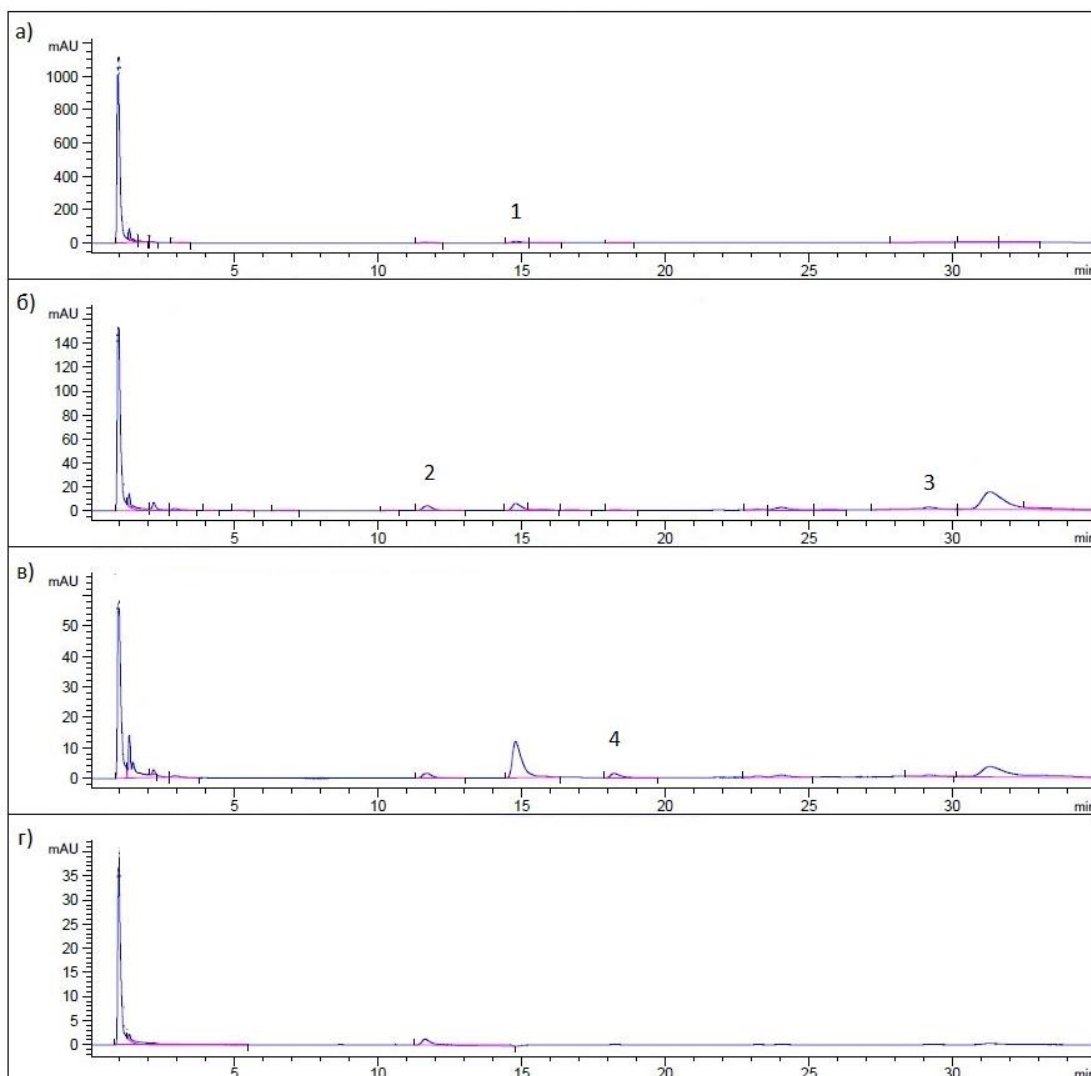
Идентификована једињења: 1-кафена киселина, 2- *p*-кумаринска киселина, 3- хлорогенска киселина, 4- розмаринска киселина, 5- ферулна киселина, 6- гална киселина, 6- кверцетин.

Прилог 6. Пример хроматограма анализе розмаринске киселине у плазми пацијента.



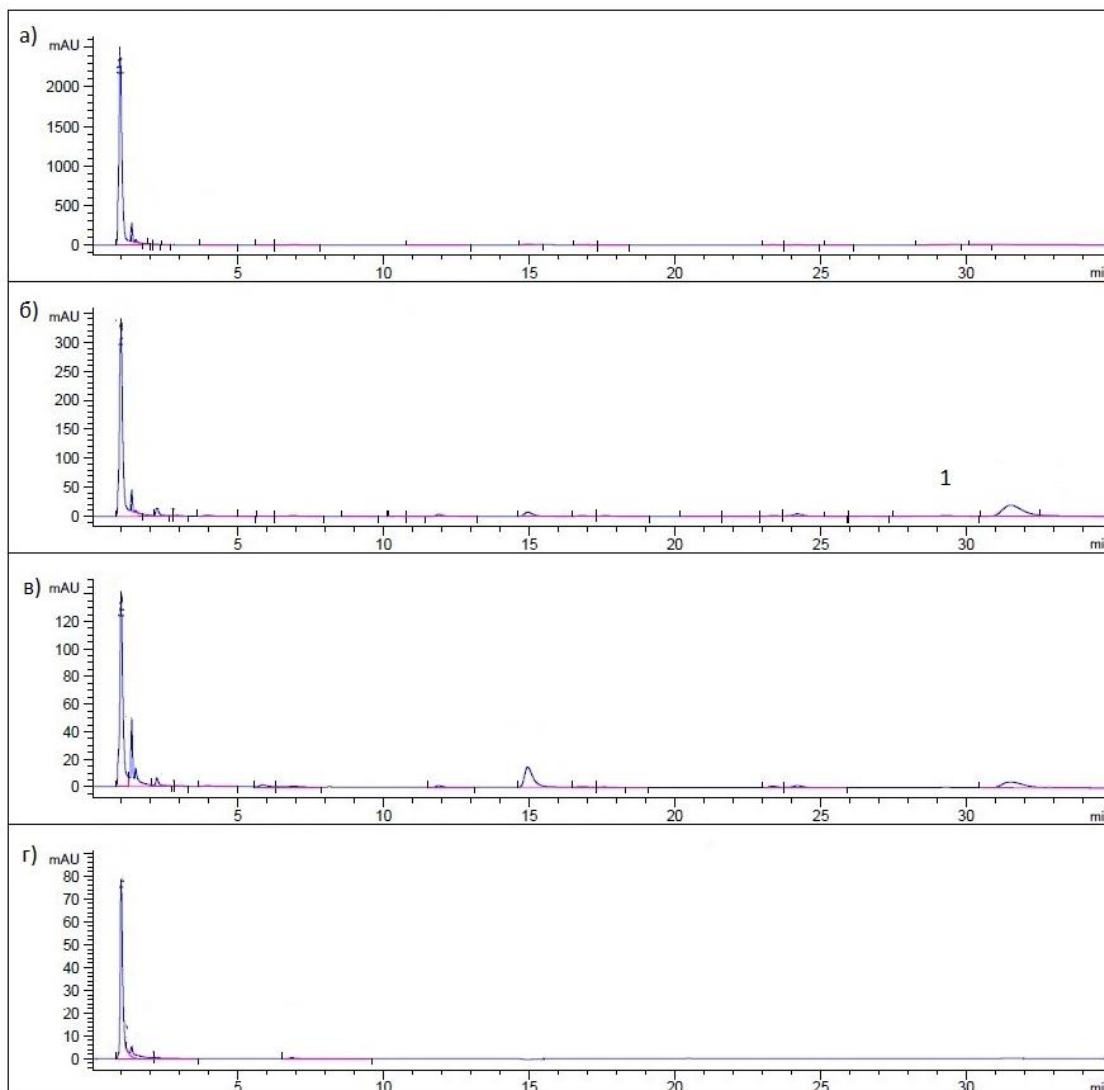
Хроматограм анализаног узорка плазме (шифра пацијента DRV+MAT-1).

Идентификовано једињење: 1- розмаринска киселина.

Прилог 7. Примери хроматограма анализе лекова у плазми пацијената.

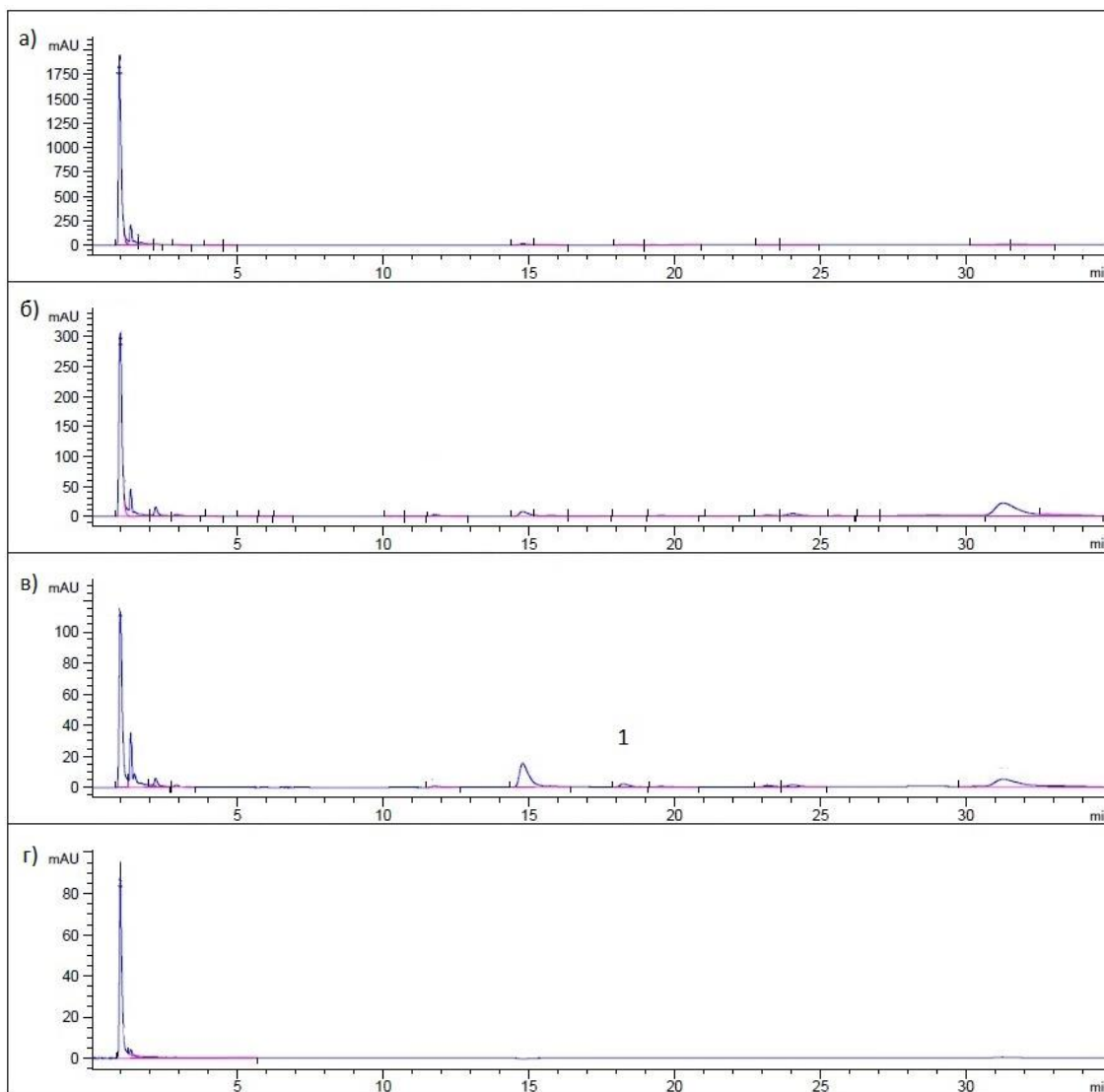
Хроматограм плазме (здрав добровољац, без медикаментозне терапије, са додатим стандардима лекова и интерним стандардом) са UV детекцијом на а) 210 nm, б) 240 nm, в) 260 nm и г) 305 nm.

Идентификована једињења: 1 – хиноксалин, 2 – ралтегравир, 3 – дарунавир, 4 – ефавиренз.



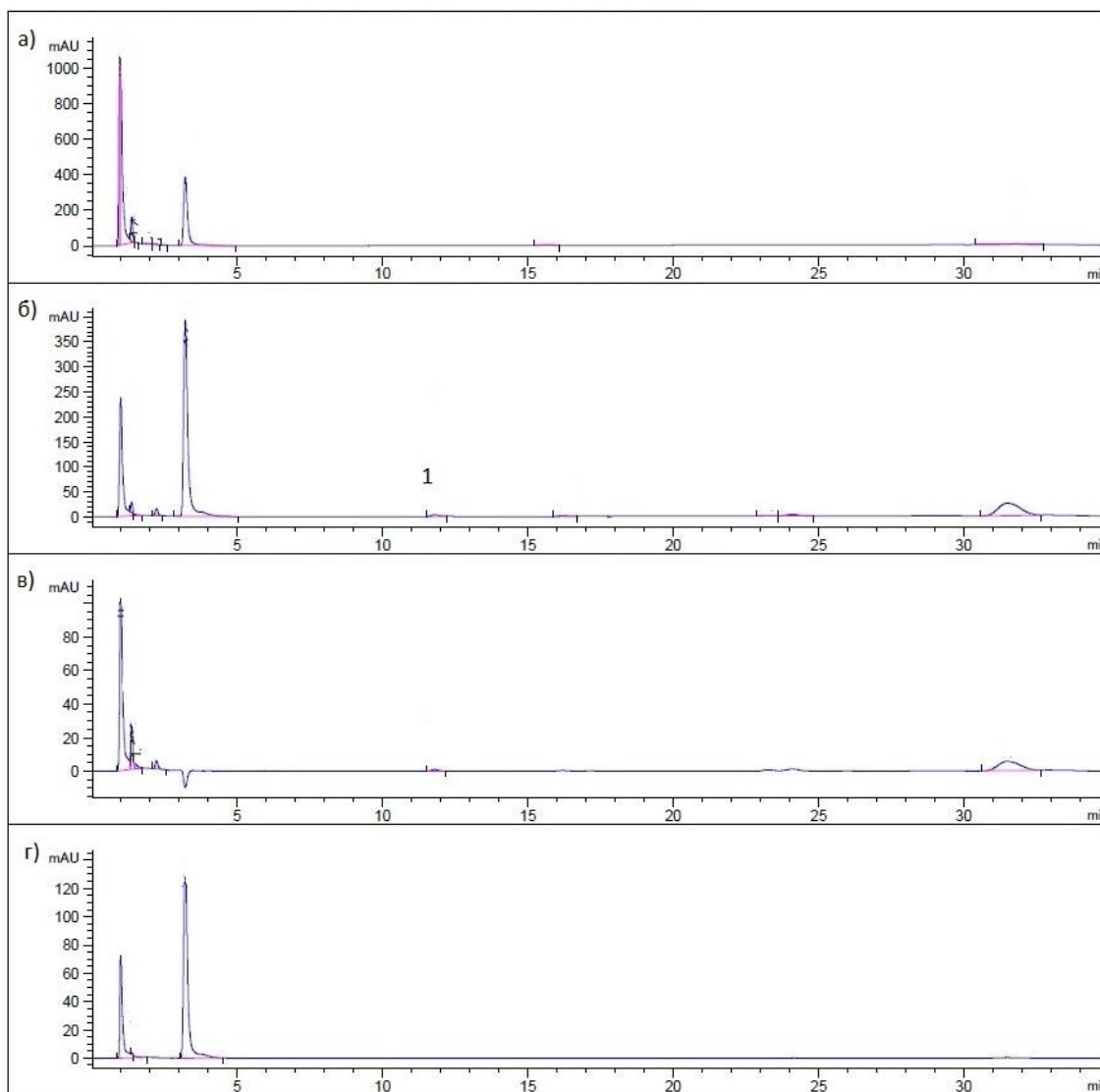
Хроматограм плазме (шифра пацијента EFV+MAT-1) са UV детекцијом на а) 210 nm, б) 240 nm, в) 260 nm и г) 305 nm.

Идентификовано једињење: 1 – ефавиренз.



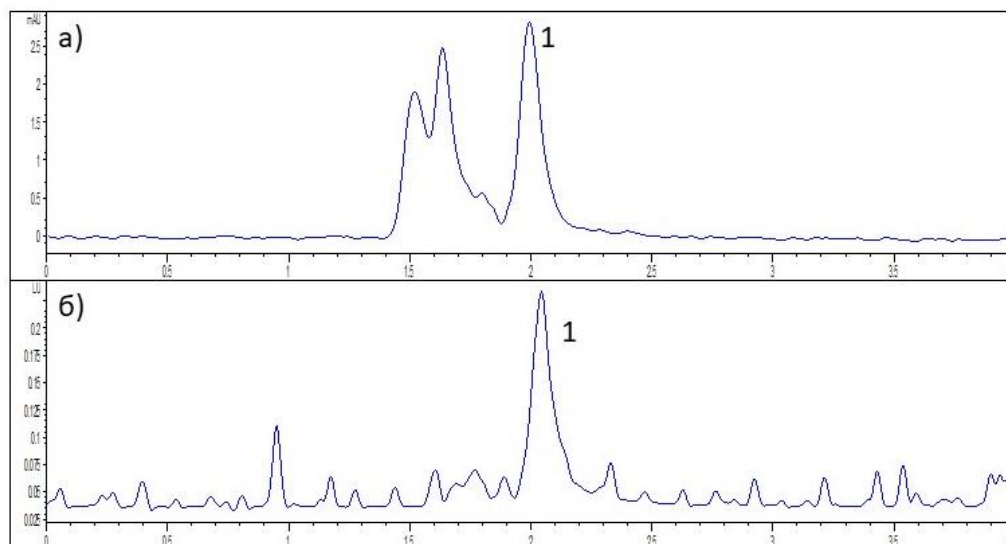
Хроматограм плазме (шифра пацијента DRV+MAT-15) са UV детекцијом на а) 210 nm, б) 240 nm, в) 260 nm и г) 305 nm.

Идентификовано једињење: 1 – дарунавир.



Хроматограм плазме (шифра пацијента RAL+MAT-9) са UV детекцијом на а) 210 nm, б) 240 nm, в) 260 nm и г) 305 nm.

Идентификовано једињење: 1 – ралтегравир.

Прилог 8. Пример хроматограма анализе TBARS у хемолизату пацијената.

Хроматограм хемолизата (шифра пацијента K-RAL-2) са а) UV детекцијом на 532 nm и б) флуоресцентном детекцијом на таласној дужини екситације 527 nm и таласној дужини емисије 551 nm.

Идентификовано једињење: 1 – адукт MDA и TBA.

План третмана података

Назив пројекта/истраживања
<u>Потенцијал екстракта матичњака (<i>Melissa officinalis</i> L., Lamiaceae) као помоћне терапије у лечењу инфицираних вирусом хумане имунодефицијенције</u>
Назив институције/институција у оквиру којих се спроводи истраживање
<u>Медицински факултет Универзитета у Новом Саду</u> <u>Медицински факултет Универзитета у Београду</u>
Назив програма у оквиру ког се реализује истраживање
<u>докторске академске студије клиничке медицине</u>
1. Опис података
<p>1.1 Врста студије <u>Истраживање је конципирано као проспективна клиничка студија, која је обухватила пацијенте Центра за HIV/AIDS Клинике за инфективне болести Клиничког центра Војводине.</u></p>
<p>1.2 Врсте података</p> <p><u>а) квантитативни</u></p> <p><u>б) квалитативни</u></p>
<p>1.3. Начин прикупљања података</p> <p><u>а) анкете, упитници, тестови</u></p> <p><u>б) клиничке процене, медицински записи, електронски здравствени записи</u></p> <p>в) генотипови: навести врсту _____</p> <p>г) административни подаци: навести врсту _____</p> <p><u>д) узорци ткива: узорци крви пацијената инфицираних вирусом хумане имунодефицијенције</u></p> <p>ђ) снимци, фотографије: навести врсту _____</p> <p><u>е) текст: литературни наводи</u></p>

ж) мапа, навести врсту _____

з) остало: описати _____

1.3 Формат података, употребљене скале, количина података

1.3.1 Употребљени софтвер и формат датотеке:

а) Excel фајл, датотека .xlsx

б) SPSS фајл, датотека .sav

в) PDF фајл, датотека _____

г) Текст фајл, датотека .docx

д) JPG фајл, датотека .jpg

е) Остало, датотека _____

1.3.2. Број записа (код квантитативних података)

а) број варијабли - **велики број**

б) број мерења (испитаника, процена, снимака и сл.) **велики број**

1.3.3. Поновљена мерења

а) да

б) не

Уколико је одговор да, одговорити на следећа питања:

а) временски размак између поновљених мера је _____

б) варијабле које се више пута мере односе се на _____

в) нове верзије фајлова који садрже поновљена мерења су именоване као _____

Напомене: _____

Да ли формати и софтвер омогућавају дељење и дугорочну валидност података?

а) Да

б) Не

Ако је одговор не, образложити _____

2. Прикупљање података

2.1 Методологија за прикупљање/генерисање података

2.1.1. У оквиру ког истраживачког нацрта су подаци прикупљени?

а) експеримент, навести тип: претклиничке *in vitro* студије (са спектрофотометријским методама и методама високо ефикасне течне хроматографије); клиничка проспективна студија, са узимањем биолошког узорка (узорци крви), антропометријом и анкетним испитивањем; анализа биолошких узорака, методама спектрофотометрије, високо ефикасне течне хроматографије, реакције ланчаног умножавања, и имунохемије

б) корелационо истраживање, навести тип _____

ц) анализа текста, навести тип: прикупљање података анализом доступне литературе

д) остало, навести шта _____

2.1.2 Навести врсте мерних инструмената или стандарде података специфичних за одређену научну дисциплину (ако постоје).

2.2 Квалитет података и стандарди

2.2.1. Третман недостајућих података

а) Да ли матрица садржи недостајуће податке? **Да** Не

Ако је одговор да, одговорити на следећа питања:

а) Колики је број недостајућих података? **мали, зависи од мерене варијабле**

б) Да ли се кориснику матрице препоручује замена недостајућих података? Да **Не**

в) Ако је одговор да, навести сугестије за третман замене недостајућих података

2.2.2. На који начин је контролисан квалитет података? Описати

Контрола је спроведена применом статистичких метода.

2.2.3. На који начин је извршена контрола уноса података у матрицу?

Контрола је спроведена поређењем са литературним подацима.

3. Третман података и пратећа документација

3.1. Третман и чување података

3.1.1. Подаци ће бити депоновани у **Репозиторијуму Универзитета у Новом Саду.**

3.1.2. URL адреса **<https://cris.uns.ac.rs/searchDissertations.jsf>**

3.1.3. DOI _____

3.1.4. Да ли ће подаци бити у отвореном приступу?

а) Да

б) Да, али после ембарга који ће трајати до _____

в) Не

Ако је одговор не, навести разлог _____

3.1.5. Подаци неће бити депоновани у репозиторијум, али ће бити чувани.

Образложење

3.2 Метаподаци и документација података

3.2.1. Који стандард за метаподатке ће бити примењен? _____

3.2.1. Навести метаподатке на основу којих су подаци депоновани у репозиторијум.

Ако је потребно, навести методе које се користе за преузимање података, аналитичке и процедуралне информације, њихово кодирање, детаљне описе варијабли, записа итд.

3.3 Стратегија и стандарди за чување података

3.3.1. До ког периода ће подаци бити чувани у репозиторијуму? **трајно**

3.3.2. Да ли ће подаци бити депоновани под шифром? Да **Не**

3.3.3. Да ли ће шифра бити доступна одређеном кругу истраживача? Да **Не**

3.3.4. Да ли се подаци морају уклонити из отвореног приступа после извесног времена?

Да **Не**

Образложити

4. Безбедност података и заштита поверљивих информација

Овај одељак МОРА бити попуњен ако ваши подаци укључују личне податке који се односе на учеснике у истраживању. За друга истраживања треба такође размотрити заштиту и сигурност података.

4.1 Формални стандарди за сигурност информација/података

Истраживачи који спроводе испитивања с људима морају да се придржавају Закона о заштити података о личности (https://www.paragraf.rs/propisi/zakon_o_zastiti_podataka_o_licnosti.html) и одговарајућег институционалног кодекса о академском интегритету.

4.1.2. Да ли је истраживање одобрено од стране етичке комисије? **Да** Не

Ако је одговор Да, навести датум и назив етичке комисије која је одобрила истраживање

Етички одбор Клиничког центра Војводине (број одобрења 00-15/829 од 6. октобра 2017. године)

Етичка комисија Медицинског факултета Универзитета у Новом Саду (број одобрења 01-39/217/1 од 23. новембра 2017. године)

4.1.3. Да ли подаци укључују личне податке учесника у истраживању? Да Не

Ако је одговор да, наведите на који начин сте осигурали поверљивост и сигурност информација везаних за испитанике:

а) Подаци нису у отвореном приступу

б) Подаци су анонимизирани

ц) Остало, навести шта

5. Доступност података

5.1. Подаци ће бити

а) јавно доступни

б) доступни само уском кругу истраживача у одређеној научној области

ц) затворени

Ако су подаци доступни само уском кругу истраживача, навести под којим условима могу да их користе:

Ако су подаци доступни само уском кругу истраживача, навести на који начин могу приступити подацима:

5.4. Навести лиценцу под којом ће прикупљени подаци бити архивирани.

Ауторство – некомерцијално – без прераде

6. Улоге и одговорност

6.1. Навести име и презиме и мејл адресу власника (аутора) података

Маја Хитл, маја.bekut@mf.uns.ac.rs

6.2. Навести име и презиме и мејл адресу особе која одржава матрицу с подацима

Маја Хитл, маја.bekut@mf.uns.ac.rs

6.3. Навести име и презиме и мејл адресу особе која омогућује приступ подацима другим истраживачима

Маја Хитл, маја.bekut@mf.uns.ac.rs