

УНИВЕРЗИТЕТ У КРАГУЈЕВЦУ

ФАКУЛТЕТ МЕДИЦИНСКИХ НАУКА

НАСТАВНО-НАУЧНОМ ВЕЋУ

1. Одлука Наставно-научног већа

Одлуком Наставно-научног већа Факултета медицинских наука Универзитета у Крагујевцу, број 01-13382/3-7 од 23.12.2015. године, именовани су чланови Комисије за оцену научне заснованости теме докторске дисертације кандидата дипл. фарм. Сандре Матовић под називом: „**Фармакокинетика 25-хидрокси витамина D код деце оболеле од астме**”. На основу одлуке Наставно-научног већа, формирана је Комисија у саставу:

1. Проф. др Слободан Јанковић, редовни професор Факултета медицинских наука, Универзитета у Крагујевцу за уже научне области Фармакологија са токсикологијом и Клиничка фармација, председник
2. Проф. др Наташа Ђорђевић, ванредовни професор Факултета медицинских наука, Универзитета у Крагујевцу за ужу научну област Фармакологија са токсикологијом, члан
3. Проф. др Зоран Тодоровић, ванредни професор Медицинског факултета Универзитета у Београду за ужу научну област Фармакологија, клиничка фармакологија и токсикологија, члан

На основу увида у приложену документацију, Комисија подноси Наставно-научном већу Факултета медицинских наука у Крагујевцу следећи

2. Извештај о оцени научне заснованости теме докторске дисертације

Кандидаткиња, дипл. фарм. Сандра Матовић, испуњава све услове предвиђене Законом о високом образовању и Статутом Факултета медицинских наука у Крагујевцу за израду докторске дисертације.

2.1 Кратка биографија кандидата

Дипл. фарм. Сандра Матовић је рођена 03.09.1987. године у Крагујевцу. Средњу школу, Прву крагујевачку гимназију завршила у Крагујевцу као носилац Вукове дипломе. Дипломирала је на смеру Интегрисане академске студије фармације на Медицинском факултету Универзитета у Крагујевцу 2009. године са просечном оценом 8.81. Обавила је стаж предвиђен за дипломираног фармацеута и положила стручни испит. Од 2012. године радила је у ЗУА Pharma-plus, а од фебруара 2013. године запослена у ZUA Lilly drogerie. Усмени докторски испит из изборног подручја Клиничка и експериментална фармакологија положила је у априлу 2015. године.

2.2 Наслов, предмет и хипотезе докторске тезе

Наслов: „Фармакокинетика 25-хидрокси витамина D код деце оболеле од астме”.

Предмет: Ова студија се бави израдом популационог фармакокинетског модела 25-хидрокси витамина D код деце оболеле од астме, узраста од 7 до 18 година, тј. добијањем средњих популационих вредности клиренса и волумена дистрибуције 25- хидрокси витамина D код наведене популације као и идентификовањем и квантификацијом фактора који утичу на њих. Поред наведеног, студија ће испитивати корелацију серумске концентрације 25- хидрокси витамина D са постигнутим успехом у школи, квалитетом живота, као и степеном анксиозности и депресивности.

Хипотезе:

1. Претпоставља се да постоји корелација између серумске концентрације 25-хидрокси витамина D и оствареног успеха у школи код деце оболеле од астме узраста од 7 до 18 година.
2. Претпоставља се да постоји корелација између серумске концентрације 25-хидрокси витамина D и анксиозности наведене популације.
3. Претпоставља се да постоји корелација између серумске концентрације 25-хидрокси витамина D и депресивности код деце оболеле од астме.

4. Претпоставља се да постоји корелација између серумске концентрације 25-хидрокси витамина D и квалитета живота код наведене популације

5. Начин исхране повезан је са настанком хипо- или хипервитаминозе код испитиване популације.

6. Временски период изложености сунчевој светлости повезан је са настанком хипо или хипервитаминозе код испитиване популације.

2.3 Испуњеност услова за пријаву теме докторске дисертације

Кандидаткиња је испунила потребан услов за пријаву докторске тезе – објавила је рад у целини у часопису са рецензијом, у коме је први аутор:

1. Matovic S, Jankovic S. Quality of life among patients with depression. Serbian Journal of Experimental and Clinical Research 2015; (2): 151-157. **M52**

2.4. Преглед стања у подручју истраживања

Витамин D је липосолубилни витамин који је присутан у више хемијских облика од којих су за човека најзначајнији D2 (ергокалциферол) - добија се из хране, и D3 (холекалциферол) - ствара се у кожи. Обе форме витамина D (D2 и D3) су неактивне и морају проћи две реакције хидроксилације да би настала активна форма којом се остварају физиолошки ефекти у организму.

Већи део витамина D (80-90%) се синтетише у кожи под дејством сунчеве светлости односно УВ зрака из 7-дехидрохолестерола, док се преостали део (10-20%) уноси путем хране или суплемената. Иако још увек није познат тачан механизам овог витамина у астми, постоје многобројни идиректни докази за то. Описана су и научно доказана многобројна дејства овог витамина на имуни систем указујући да витамин D има улогу имуномодулатора. Од посебног значаја истиче се његова улога у пролиферацији, диференцијацији и апоптози Т и В лимфоцита, смањењу продукције интерферона и проинфламаторних цитокина у моноцитима, у матурацији, диференцијацији и миграцији дендритичних ћелија као активацији макрофага итд. Показано је да витамин D својом усходном регулацијом интерлеукина 10 од стране CD4+ Т ћелија доводи до побољшања

имунолошке функције у плућима чиме остварује протективну улогу у развоју респираторних инфекција који могу бити окидачи за астму, као и превазилажењу резистенције на глукокортикоидну терапију. Такође, резултати студија су показали да испитивани витамин доводи до усходне регулације антимикробних протеина, поседује антиинфламаторно и антипролиферативно дејство на глатке мишиће респираторног тракта и смањује плућну хиперплазију. Рецептор за витамин D као и његови метаболички ензими идентификовани су у горе поменутих ћелијама имуног система, али у ћелијама бронхијалних глатких мишића остварујући своју улогу у ћелијској контракцији, пролиферацији и ремоделовању ваздушних путева. Такође, постоји значајна инверзна корелација између нивоа витамина D и укупног броја IgE антитела и еозинофила што је посебно важно код деце са атопијском астмом. Резултати истраживања су показали да витамин D може бити значајан и за когнитивне функције код човека (обзиром да се његов рецептор налази и у мозгу) као и појаву депресивних али анксиозних симптома код пацијената.

2.5. Значај и циљ истраживања

Циљеви

Примарни циљеви ове студије су:

1. Одређивање средњих, популационих вредности фармакокинетичких параметара (клиренса и волумена дистрибуције) 25-хидрокси витамина D у популацији деце оболеле од астме, узраста од 7 до 18 година.
2. Развијање популационог фармакокинетичког модела клиренса витамина D и откривање и квантификација фактора који у значајној мери утичу на клиренс и интра- и интериндивидуалну варијабилност 25-хидрокси витамина D у наведеној популацији.
3. Испитивање корелације серумских концентрација витамина D код деце оболеле од астме са постигнутим успехом у школи, тј. просечном оценом оствареном током школовања.

4. Процена анксиозности, депресије, као и квалитета живота код испитиване популације и утврђивање њихове повезаности са измереном серумском концентрацијом витамина D у испитиваној популацији.

Значај

Добијањем одговарајуће фармакокинетске једначине клиренса и његове варијабилности могуће је предвидети дозу витамина D за сваког појединачног испитаника, односно значајно може утицати на индивидуализацију дозног режима овог витамина код деце оболеле од астме. Такође испитивање постојања корелације серумске концентрације витамина D са постигнутим успехом током школовања, квалитетом живота, анксиозношћу и депресијом може указати на потребу за суплементацијом витамина D у испитиваној популацији. Студија овог типа би била прва студија у Србији.

2.6. Веза са досадашњим истраживањима

Према досадашњим истраживањима у свету има око 1 милијарда људи који имају неки облик хиповитаминозе, тј. инсуфицијенцију (серумска концентрација 25-хидрокси витамина D у распону 50-70 nmol/l (20-28 mg/l)) или дефицијенцију (серумска концентрација 25-хидрокси витамина < 50 nmol/l (< 20 mg/l)) витамина D. Урбани начин живота, као и неадекватна исхрана код деце су заједнички именоватељи за настанак његове хиповитаминозе. Томе треба додати и чињеницу да деца са астмом већи део времена проводе у кући, значајно мање су изложена сунчевој светлости као и да се мање баве или не баве физичком активношћу, што још више доприноси развоју инсуфицијенције овог витамина.

Последњих година изузетно се повећао број студија које показују повезаност дефицијенције витамина D са повећаном учесталошћу астме, тежином болести, њеном егзацербацијом, редукцијом плућне функције и ремоделовањем плућа као и незадовољавајућим одговором, односно појавом резистенције на глукокортикоидну терапију код деце са астмом.

2.7. Методе истраживања

Врста студије

Истраживање ће бити спроведено као проспективна студија типа „серије случајева“.

Популација која се истражује

Популација испитаника се састоји од деце оболеле од астме, узраста од 7 до 18 година. Испитаници ће бити укључени у студију на основу добровољног пристанка њихових родитеља, њиховим упознавањем са студијом усменим и писменим путем, и након потписивања формулара за Информативни пристанак испитаника. Временски период посматрања испитаника ће бити месец дана. Током наведеног периода испитаници ће уредно водити Дневник исхране где ће за сваки дан уносити податке о врсти, количини и времену уношења намирница у току сваког дана као и податке о временском периоду изложености сунчевој светлости у току појединачног дана (временски период ће бити изражаван као број минута у току дана), на основу чега би се рачунала доза витамина D унета у организам за наведени период. Истраживач ће водити евиденцију о временским приликама за посматрани период тј бележиће се да ли је дан сунчан или је присутна облачност.

Узорковање

Испитаници који ће бити укључени у студију мораће да испуњавају следеће критеријуме: деца оболела од астме, да су старости од 7 до 18 година, да су на избалансираној исхрани, да нису мењали стил исхране у току последњих 6 месеци и да добровољно прихватају учешће у студији. Искључујући критеријуми су: конзумација витаминских суплемената или олигоелемената, дијететски режим исхране, акутно или хронично присуство бубрежних или обољења јетре, хронично присуство следећих обољења: других респираторних обољења осим астме, ендокринолошких (дијабетес), неуролошких (епилепсија, мултипла склероза, тумори ЦНС-а или цереброваскуларна обољења), психијатријских, кардиоваскуларних, имунолошких и обољења дигестивног система (малапсорпција) као и присуство глаукома или вирусне инфекције код испитаника, деца која имају значајан когнитивни дефицит или самоиницијативно прекидање учешћа у студији.

Након завршетка вођења Дневника исхране од испитаника ће у јутарњим сатима (пре оброка) бити узета крв венепункцијом од стране стручног медицинског особља. Узимање

узорака крви за поменуте анализе се рутински спроводи на Клиници за педијатрију КЦ Крагујевац, а одређивање концентрације 25, хидрокси деривата витамина D и других биохемијских параметара у Централној лабораторији Клиничког центра. Вредности тестова кожных проба и плућне функције такође су део стандардне процедуре у дијагностиковању астме и спроводе се на Клиници за педијатрију и алергологију у оквиру Клиничког центра у Крагујевцу. Сви подаци добијени од испитаника током извођења студије ће се користити само научне сврхе и неће бити дате на увид и/или коришћење другима у циљу поштовања приватности испитаника.

Спровођење упитника код деце оболеле од астме вршило би се приликом редовне посете лекару специјалисти на Клиници за педијатрију.

Инструменти:

- Претрага анксиозних поремаћаја (SCARED) (састоји се из три подскеле)
- Упитник о расположењу и осећањима (SMFQ)
- Педијатријски упитник процене квалитета живота код деце са астмом-РАQLQ.

Наведени инструменти су валидирани и културолошки адаптирани на српски језик. Добијене су дозволе за њихово коришћење, као и дозволе аутора валидираних скала на српском језику.

Варијабле које се мере у студији

Независне варијабле:

Доза и дозни режим витамина D који ће бити добијени анализирањем дневних obroка и изложености сунчевим зрацима током периода посматрања. Садржај витамина D у obroцима у случају готових производа биће одређиван на основу декларацијских података о садржају витамина D у одређеној количини производа, док ће садржај витамина D у другим намирницама коришћеним у исхрани бити прерачунат на основу табела USDA National Nutrient Database for Standard reference, Release 24; Vitamin D Content of Selected Foods per Common Measure. Изложеност сунчевим зрацима у трајању од 5 до 10 минута (при чему се излаже 25% укупне површине тела) ствара 3000 IU

витамина D. Присуство велике облачности редукује UVB зрачење и синтезу витамина D за 99% .

Зависне варијабле:

- Серумска концентрација витамина D у испитиваној популацији-добијена имунохемијском методом
- Средња популациона вредност фармакокинетских параметара (клиренс и волумен дистрибуције) витамина D- добијена помоћу софтверског пакета NONMEM (Нелинеарно Комбиновање Мешовитих Ефеката)
- Анксиозност - процењује се применом скале - Претрага анксиозних поремаћаја (SCARED)
- Депресивност - процењује се применом Упитник о расположењу и осећањима (SMFQ)
- Квалитет живота - Педијатријски упитник процене квалитета живота код деце са астмом-PAQLQ.

Збуњујуће варијабле:

- Узраст, пол, етничка припадност, телесна тежина и висина испитаника, индекс телесне масе (BMI)-Подаци ће бити добијени помоћу посебно осмишљеног упитника.
- Коришћење лекова (назив лека, доза и временски период коришћења лека)- Подаци ће бити добијени помоћу посебно осмишљеног упитника.
- Информације о постигнутом успеху у школи: разред, општи успех и просечна оцена остварена у текућој школској години, обнављање школских година (који разред и колико пута). Подаци ће бити добијени помоћу посебно осмишљеног упитника.
- Вредности тестова за мерење плућне функције, биохемијски параметри, резултати спроведених кожных тестова (добијени помоћу посебно осмишљеног упитника), као и тежина обољења, број погоршања болести и хоспитализација. Подаци ће бити добијени из медицинске документације.

Снага студије и величина узорка

Одређивање узорка вршено је употребом компјутерског програма G power 3.1.2 при чему су дефинисани почетни параметри за снагу студије, 80%, и вероватноћу грешке првог типа (α) од 0,05 за двосмерно тестирање хипотезе. Средња вредност концентрације витамина D, на основу доступних литературних података, износила је 49,29 ng/ml са стандардном девијацијом (SD) од $\pm 21,44$ ng/ml (15). На основу наведених параметара применом t-теста израчуната је потребна величина узорка од минимум 45 пацијената.

Фармакокинетичка и статистичка обрада података

Анализа прикупљених података биће вршена употребом софтверског програма NONMEM-а (верзија 7.3.0), једног од најшире коришћених програма за популациону фармакокинетичку анализу, који за основни статистички критеријум користи минималну објективне функције (МОФ) која се дефинише као негативни двоструки логаритам вероватноће података.

Процена средње, популационе вредности фармакокинетичких параметара у испитиваној популацији у првом кораку добиће се употребом наведеног софтвера и одговарајуће субрутинне уз коришћење податка из литературе из тзв. базног модела (без испитивања утицаја наведених фактора), као и величина њихове интер- и интраиндивидуалне варијабилности поменутих параметара. У следећем кораку вршиће се процес униваријатне селекције где се појединачно испитује утицај сваког фактора (телесне масе, висине, старости испитаника, пола, укупне дневне дозе витамина D, утицај лекова за лечење астме, вредности тестова плућне функције претходно поменутих, серумског нивоа калцијума, фосфора, укупног нивоа IgE антитела, броја еозинофила, тежине болести и друге пратеће терапије) уз придржавање статистичких критеријума за ову анализу (за појединачно испитивање сваког фактора потребна је статистички значајна разлика МОФ-а од 3.841 ($\chi^2=3.841$, $P<0.05$, $df=1$)). Затим се само они фактори који су показали статистичку значајност истовремено убацују градећи на тај начин пун модел. За добијање коначног модела врши се процес уназадне делације сваког појединачног фактора из пуног модела, уз употребу строжијих статистичких критеријума. (разлика МОФ-а већа од 6.6 ($\chi^2=6.6$, $P<0.01$, $df=1$) како би се добила једначина коначног модела. То значи да ће се у форми математичке једначине добити величина утицаја оних фактора који значајно

одређују и описују клиренс овог витамина у испитиваној популацији, као и квантификација тих фактора, уз смањење интра- и интра-индивидуалне варијабилности .

За процену предиктивних перформанси и валидности добијеног фармакокинетичког модела испитиваног витамина користиће се валидациони сет који укључује 10-15 пацијената сличних карактеристика који неће бити укључени у главни сет за испитивање (екстерна валидација). Овом анализом ће се показати да ли је добијени модел добар, предвидљив и примењив за клиничку употребу. Такође ће бити израчунате предективне грешке за процену биаса и прецизности добијених модела. Поред тога, биће урађена и интерна валидација добијеног модела употребом bootstrapping анализе уз израчунавање средње вредности фармакокинетичких параметара, стандардне девијације (SD), стандардне грешке и 95% интервали поверења за сваки испитивани параметар и обе испитиване варијабилности.

У статистичкој обради података, континуалне варијабле ће бити презентоване као средња вредност \pm стандардна девијација (SD) у тексту и табелама, а категоријске као пропорција испитаника са одређеним исходом. За поређење средњих вредности континуалних варијабли користиће се Студентов t -тест за мале независне узорке, односно алтернативним непараметријским тестом уколико резултати не прате нормалну расподелу, што ће бити утврђено помоћу Колмогоров-Смирнов теста.

За утврђивање постојања корелације измерених концентрација витамина D са постигнутим успехом учења, нивоом депресије, анксиозности и квалитетом живота код испитаника вршиће се методом линеарне регресионе анализе и утврђивањем коефицијента корелације употребом Excel-а из Microsoft Office програмског пакета и програма SPSS верзија 18. Статистичка значајност у примењеним тестовима биће одређена вредношћу $p < 0.05$ као и 95% интервали поверења.

2.8. Очекивани резултати докторске дисертације

Од добијених резултата у овој студији се очекује добијање средњих популационих вредности фармакокинетских параметара (клиренса и волумена дистрибуције) 25-хидроксивитамина D као и откривање и квантификација свих фактора који у значајној мери утичу на клиренс, интра- и интериндивидуалну варијабилност наведеног витамина код деце оболеле од астме узраста од 7 до 18 година. Ова врста студије до сада није рађена

у нашој земљи. Као секундарни циљ студија треба да испита постојање/непостојање повезаности нивоа серумске концентрације 25- хидрокси витамина D са постигнутим успехом у школи, квалитетом живота, степеном анксиозности и депресивности деце оболеле од астме.

Добијањем одговарајуће фармакокинетске једначине ствара се могућност да се предвиди доза витамина D за сваког појединачног испитаника, односно детета, што би омогућило индивидуализацију дозног режима витамина D код деце оболеле од астме у Србији, у виду суплементације. Такође, испитаће се да ли серумски ниво 25- хидрокси витамина D утиче на успех у школи, квалитет живота, степен анксиозности и депресивности код деце оболеле од астме.

2.9. Оквирни садржај дисертације

Истраживање је осмишљено као проспективна студија типа серије случајева, која ће одредити средње популационе вредности клиренса и волумена дистрибуције 25- хидрокси витамина D у испитиваној популацији. Студија би требало да идентификује и квантифицикује фактора који у значајној мери утичу на наведене фармакокинетичке параметре витамина D. Очекује се да би добијени резултати допринели рационалнијем дозирању витамина D.

2.10. Предлог ментора

За ментора се предлаже проф.др Јасмина Миловановић, ванредни професор Факултета медицинских наука у Крагујевцу за ужу научну област Фармакологија и токсикологија.

2.11. Научна област дисертације

Медицина и фармација. Уже области Клиничка и експериментална фармакологија.

2.12 Научна област чланова комисије

1. Проф. др Слободан Јанковић, редовни професор Факултета медицинских наука, Универзитета у Крагујевцу за уже научне области Фармакологија са токсикологијом и Клиничка фармација, председник
2. Проф. др Наташа Ђорђевић, ванредовни професор Факултета медицинских наука, Универзитета у Крагујевцу за ужу научну област Фармакологија са токсикологијом, члан
3. Проф. др Зоран Тодоровић ванредни професор Медицинског факултета Универзитета у Београду за ужу научну област Фармакологија, клиничка фармакологија и токсикологија,

Закључак и предлог комисије

1. На основу досадашњег успеха на докторским студијама и публикованих радова, дипл. фарм. Сандра Матовић испуњава све услове прописане Статутом Факултета и законом о Универзитету за одобрење теме и израду докторске дисертације.

2. Предложена тема је научно оправдана, дизајн истраживања је прецизно постављен и дефинисан а методологија јасна.

3. Комисија сматра да ће предложена докторска теза дипл. фарм. Сандре Матовић бити од научног и практичног значаја, јер развојем популационог фармакокинетичког модела витамина ствара се могућност за индивидуални дозни режим витамина D код деце оболеле од астме.

4. Комисија предлаже Наставно-научном већу Факултета медицинских наука у Крагујевцу да прихвати пријаву теме докторске дисертације кандидата дипл. фарм. Сандре Матовић под називом „Фармакокинетика 25-хидрокси витамина D код деце оболеле од астме“ и одобри њену израду.

Чланови Комисије:

1. Проф. др Слободан Јанковић, редовни професор Факултета медицинских наука, Универзитета у Крагујевцу за уже научне области Фармакологија са токсикологијом и Клиничка фармација, председник

2. Проф. др Наташа Ђорђевић, ванредовни професор Факултета медицинских наука, Универзитета у Крагујевцу за ужу научну област Фармакологија са токсикологијом, члан

3. Проф. др Зоран Тодоровић, ванредни професор Медицинског факултета Универзитета у Београду за ужу научну област Фармакологија, клиничка фармакологија и токсикологија, члан

У Крагујевцу, 10.01.2016. године