

Наставно-научном вијећу Медицинског факултета Универзитета у Бањалуци

Одлуком Наставно-научног вијећа Медицинског факултета број 18-3-871/2012. године од 03.12.2012. године именована је Комисија за оцјену подобности теме "Нефротоксичност метотрексата код дјече са акутном лимфобластном леукемијом" кандидаткиње мр Татјане Вујић, дипл. фармацеута, за израду докторске тезе у саставу:

1. Др Бранислава Миљковић, редовни проф., ужа научна област фармакокинетика, Фармацеутски факултет Универзитета у Београду, председник,
2. Др Свјетлана Стоисављевић-Шатара, редовни проф., ужа научна област фармакологија и токсикологија, Медицински факултет Универзитета у Бањалуци, члан и
3. Др Јелица Предојевић-Самарцић, ванредни проф., ужа научна област педијатрија, Медицински факултет Универзитета у Бањалуци, члан

Након детаљног прегледа пријаве докторске дисертације и библиографије кандидаткиње мр Татјане Вујић, дипл. фармацеута, Комисија Наставно-научном вијећу Медицинског факултета и Сенату Универзитета у Бањалуци подноси

Извјештај о оцјени подобности теме и кандидата за израду докторске дисертације

1. Биографски подаци, научна и стручна дјелатност кандидаткиње

I Биографија

Татјана Вујић је рођена 08.11.1977. године у Приједору, гдје је завршила осмогодишњу школу. Гимназију је завршила у Бањалуци 1996. године, а Медицински факултет у Бањалуци, Одсек фармације, је завршила 2003. године просјечном оцјеном 9,3. Магистрирала је на истом факултету 2012. године просјечном оцјеном 9,70. Прво радно искуство је стекла у Апотекарској

установи Бањалука од 2003 до 2007. године од кад се налази у сталном радном односу, као виши стручни сарадник, у Агенцији за лијекове и медицинска средства Босне и Херцеговине. У оквиру стручне праксе кандидаткиња је 6 мјесеци, 2003. године, радила у аналитичкој лабораторији фабрике лијекова “*Bell Pharmaceuticals Inc, Belle Plaine, Minnesota, САД*”, а била је и на тронедјељној едукацији у оквиру програма “*Sida’s international training programme*” на тему “*Strategies for Chemicals Managment*” у Штокхолму, Шведска, 2008. године. Говори енглески и служи се њемачким језиком. Удата је и има кћерку.

II Библиографија

а) Магистарски рад

"Ензими као рани биохемијски маркери нефротоксичности цефалексина",
Медицински факултет Универзитета у Бањалуци, 28.01.2012. године

б) Оригинални научни радови у часописима међународног значаја

1. Davidović-Plavšić B, **Vujić T**, Uletilović S, Predojević-Samardžić J, Malčić D, Saničanin Ž. Urinary activities of proximal tubule enzymes in neonates treated with gentamicin. *J Med Biochem* 2010;29:44-7.
2. **Vujić T**, Uletilović S, Predojević-Samardžić J, Davidović-Plavšić B, Stoisavljević-Šatara S, Saničanin Ž. The activity of proximal tubule enzymes in the urine of cephalixin-treated patients. *J Med Biochem* 2011;30:131-4.

в) Оригинални научни радови у часописима националног значаја

1. Davidović-Plavšić B, **Vujić T**, Uletilović S, Predojević-Samardžić J, Saničanin Ž. Aktivnost beta-glukuronidaze u urinu kod pacijenata liječenih gentamicinom. *Glas Hem Teh RS* 2008;47:25-8.
2. S. Uletilović, **T. Vujić**, J. Predojević-Samardžić, B. Davidović-Plavšić, D. Malčić, Ž. Saničanin. Aktivnost lizozomalnih enzima proksimalnih tubula u urinu pacijenata neonatalnog perioda tretiranih gentamicinom. *Glas Hem Teh RS* 2009;2:175-9.
3. **Vujić T**, Uletilović S, Predojević-Samardžić J, Davidović-Plavšić B, Saničanin Ž. aktivnost enzima beta-glukuronidaze i alkalne fosfataze u urinu pacijenata tretiranih cefaleksinom. *Glas Hem Teh i Ekol RS* 2011;5:1-4.

г) Радови презентовани на научним скуповима

1. **Vujić T**, Davidović B, Uletilović S, Predojević-Samardžić J, Malčić D, Saničanin Ž. Nefrotoksični efekti gentamicina kod pacijenata u neonatalnom periodu. XVI kongres medicinskih biohemičara i laboratorijske medicine sa internacionalnim učešćem & 4th EFCC simpozijum za region Balkana, 17-21. 2008. Beograd.
2. **Vujić T**, Predojević-Samardžić J, Uletilović S, Davidović-Plavšić B, Saničanin Ž. Aktivnost enzima proksimalnih tubula u urinu pacijenata tretiranih cefaleksinom. XVII kongres medicinske biohemije i laboratorijske medicine sa međunarodnim učešćem & 6th EFCC symposium for Balkan region, Beograd 2010.

2. Значај и научни допринос истраживања

а) Значај истраживања

Метотрексат, инхибитор фолатсинтетазе, је један од најчешће примјењиваних лијекова у хемотерапији карцинома. Високе дозе метотрексата, уз накнадну примјену леуковорина, по протоколу ALIC-BEM 2009., се користе при лијечењу пацијената обољелих од лимфобластне леукемије. Лијек се излучује, највише неметаболизован, гломеруларном филтрацијом и активним транспортом. У случају високих доза метотрексат и његови метаболити се накупљају у ткиву бубрега, ометају транспорт помоћу органских транспортних анјона условљавајући нефротоксичност оштећењем ћелија епитела проксималних тубула и редукцијом гломеруларне филтрације. Клинички знаци нефротоксичности метотрексата (полиурија, тубуларна протеинурија, цилиндриурија и хематурија) се јављају касно, кад је бубрежно ткиво у великој мјери неповратно оштећено, а функција бубрега знатно редукована.

Значај овог рада је што доприноси раној дијагностици нефротоксичности метотрексата увођењем ензима, биохемијских маркера, код којих се повећање активности у урину јавља много раније, прије појаве клиничких знакова оштећења бубрега и у тренутку кад су те промјене реверзибилне. То се првенствено односи на два ензима, претежно локализована у мембранама ћелија епитела проксималних тубула, аланин-аминопептидазу (AAP) и гама-глутамил-трансферазу (GGT). Утврђивање повећања активности осталих ензима, лактат-дехидрогеназе (LDH), алкалне фосфатазе (AP) и Н-ацетил-бета-Д-глукозаминидазе (NAG) биће знакови тежег оштећења на нивоу органа али ће се јавити још увијек прије клиничких знакова нефротоксичности метотрексата. Почетак редукције гломеруларне филтрације биће утврђен праћењем албуминурије. Добивени резултати ће омогућити да се протокол провођења терапије метотрексатом измијени и побољша с обзиром дужину провођења терапије.

б) Преглед истраживања

У поглављу Преглед истраживања кандидаткиња је, користећи литературу публиковану углавном задњих десет година, навела резултате утврђивања начина нефротоксичног дјеловања метотрексата и начине утврђивања степена његове нефротоксичности.

Досадашња истраживања су показала да дозе метотрексата веће од 1g/m^2 често изазивају серију системских токсичности. Оне обухватају сем коже, слузница, јетре и мозга и бубрежно ткиво. Иако је нефротоксично дјеловање метотрексата везано за употребу његових високих доза у терапији, чак и ниске интравенске дозе погоршавају постојећу гломеруларну и тубуларну ћелијску некрозу. Ризик нефротоксичности метотрексата може да буде повећан и генетским полиморфизмом укљученим у метаболизам фолата.

Око 90 % метотрексата се елиминише реналним путем за прва 24 часа, а 10 % се лучи путем жучи. Метотрексат се лучи углавном непромијењен са веома мало хидрокасилних деривата насталих у јетри. Нефротоксично дјеловање метотрексата почиње његовом преципитацијом и преципитацијом његових метаболита у бубрежном ткиву чему погодују ниске вриједности рН.

Метотрексат узрокује нефротоксичност на слиједећа три начина:

- а) промјеном гломеруларне хемодинамике,
- б) директом тубуларном токсичношћу и
- в) интратеналном тубуларном опструкцијом насталом преципитацијом метотрексата и његових метаболита.

Директна тубуларна нефротоксичност је последица везивања метотрексата и његових метаболита у тубуларном лумену за полиспецифичне органске транспортне ањоне при чему се омета тубуларни транспорт дикарбоксилатних ањона.

У досадашњим студијама утврђивање нефротоксичности метотрексата најчешће је вршено при примјени ниских доза лијека код анти-инфламаторних лијечења реуматоидног артритиса и псоријазе. Гломеруларна функција је праћена мјерењем клиренса инулина, креатинина, етилендиаминотетраацетата (EDTA) и повећањем концентрације албумина у урину, а тубуларна функција одређивањем концентрација електорлита у крви и 1- или 2-микроглобулина у урину.

До сада је урађен мали број студија, и на недовољном броју испитаника, у којима је прећена нефротоксичност метотрексата код дјече примјеном високих доза лијека. Од ензима као биомаркер велике нефротоксичности кориштена је само Н-ацетил-бета-Д-глукозаминидаза. Нису кориштени ензими мембрана ћелија епитела проксималних тубула, аланин-аминопептидаза и гама-глутамилтрансфераза који су рани биомаркери реверзиблиних промјена у ћелијама епитела проксималних тубула.

в) Радна хипотеза са циљем истраживања

Програм пројекта тезе је заснован на хипотези да ће лијечење акутне лимфобластне леукемије метотрексатаом код дјеце са 4 појединачне дозе од 2000 mg/m² узроковати нефротоксичност праћену албуминуријом, повећањем активности у урину тубуларних ензима и снижавањем вриједности рН урина. На основу степена повећања концентрације албумина у урину моћи ће да се утврди природа структурних промјена гломерула, а на основу повећања активности мембранских, цитозолних и лизозомалних тубуларних ензима и степен оштећења проксималних тубула. Добивени резултати ће омогућити да се коригује актуелни протокол ординирања метотрексата с циљем да се постигну максимални терапеутски ефекти уз минимално нефротоксично дјеловање.

Како би доказала радну хипотезу мр Тајјана Вујић је поставила слиједеће циљеве:

- да се утврди да ли примјена метотрексата, (4 појединачне дозе од по 2000 mg/m² у размаку од 15 дана) код дјеце обољеле од акутне лимфобластне леукемије доводи до нефротоксичности и ако доводи у које вријеме терапије и у којем степену,
- да се утврди степен оштећења гломерула праћењем албуминурије,
- да се утврди врста и степен оштећења проксималних тубула праћењем промјене активности у урину тубуларних ензима (аланин-аминопептидазе, ААР, гама-глутамил-трансферазе, GGT, лактат-деhidрогеназе LDH, алкалне фосфатазе, AP, и Н-ацетил-бета-Д-глукозаминидазе, NAG и
- да се утврди да ли постоји веза између промјене рН урина и степена реналних оштећења.

г) Материјал и методе рада

Према приједлогу кандидаткиње у испитивање ће бити укључено 60 дјеце старости од 4 до 10 година. Дјеца ће бити пацијенти Клинике за дјечије болести Универзитетско-клиничког центра у Бањалуци. У испитиваној групи ће бити 30 испитаника, оба пола, са акутном лимфобластном леукемијом који ће бити лијечени метотрексатом са појединачним дозама од 2000 mg/m². Метотрексат ће бити аплициран у 4 појединачне дозе са размаком од 15 дана. У групи, која ће представљати контролу ће бити једнак број испитаника.

Од испитаника ће бити узиман јутарњи 12-часовни урин, прије сваке терапије и 24 часа након сваке терапије, и чуваће се на -25° С до анализе. Подаци о старости, полу, висини, тјелесној маси и здравственом стању испитаника ће бити прикупљени при првом узимању урина.

При анализи урина користеће се познате спектрофотометријске методе. Концентрација албумина ће се одређивати индикатором бром-крезол зелено, креатинин методом по *Bartels*-у и *Böhmer*-у, а активности ензима, ААР, GGT, LDH, AP и NAG фотометријски након сепарације ензима из урина гел-филтрацијом. Активности ензима ће бити изражене у U/mmol креатинина.

д) Научни допринос истраживања

Инциденција и тежина нежељених ефеката условљених терапијом метотрексатом су повезани са дозом и учесталашћу примјене лијека. Неки нежељени ефекти системске токсичности метотрексата, слабост, претјерани умор, дрхтавица и врућица, се јављају у току терапије. Ефекти нефротоксичности су дискретни или се током терапије метотрексатом уопште не јављају. Кад се утврде први клинички знаци нефротоксичности лијека као што су полиурија, тубуларна протеинурија и цилиндриурија паренхим бубрега је већ претрпио велика оштећења праћена неповратним промјенама ћелија епитела проксималних тубула и гломерула на нивоу ћелијских органела што доводи до смрти ћелија и некрозе ткива.

У програму пројекта докторске тезе се предлаже увођење ензима, раних биомаркера нефротоксичности метотрексата. Први знаци нефротоксичности ће бити пораст активности ензима мембрана ћелија епитела проксималних тубула. Те промјене активности ензима одговарају благим и реверзибилним промјенама у мембранама ћелија. Промјене активности цитозолних и лизозомалних ензима ћелија проксималних тубула и албуминурија ће бити знакови нешто веће нефротоксичности, али ће се ипак јавити прије било каквих клиничких знакова нефротоксичности.

Добивени резултати ће омогућити да се постојећи протокол примјене метотрексата коригује тако да се терапијом постигну максимални терапеутски ефекти уз минимално нефротоксично дјеловање.

3. Оцјена и приједлог

а) Научна и стручне квалификације кандидаткиње

Мр Татјана Вујић је запослена као виши стручни сарадник за клиничка испитивања у Агенцији за лијекове и медицинска средстава Б и Х. Дипломирани је фармацеут, магистар је фармацеутских наука и како је као аутор или коаутор публиковала пет научних радова има све услове да пријави пројекат докторске дисертације.

б) Научна и практична оправданост истраживања

Сваки лијек има сем терапеутског и споредно токсично дјеловање. Метотрексат је већ 50 година лијек избора при лијечењу великог броја малигних тумора, иако има изражену системску токсичност, нарочито нефротоксичност.

Предложена тема докторске дисертације "Нефротоксичност метотрексата код дјецe са акутном лимфобластном леукемијом" има научну оправданост јер ће омогућити, на основу добивених резултата, да се кориговањем протокола терапије нефротоксичност лијака максимално редукује.

в) Мишљење о предложеним методама истраживања

Предложене методе истраживања су познате, референтне, спектрофотометријске методе. Једноставне су за извођење у било којој средње опремљеној лабораторији. Резултати се лако могу да провјере. У спектрофотометријском одређивању се користи биолошки материјал урин, који се лако, неагресивно, узима од испитаника и једноставно замрзавањем чува до анализе.

г) Оцјена теме и кандидата

На основу свега изложеног Комисија закључује да је предложена тема докторске дисертације подобна и актуелна за истраживање, а кандидаткиња компетентна да то истраживање изведе. Комисија предлаже Наставно-научном вијећу Медицинског факултета у Бањалуци и Сенату Универзитета у Бањалуци да прихвати пројекат докторске тезе мр Татјане Вујић под називом "Нефротоксичност метотрексата код дјече са акутном лимфобластном леукемијом" те тако омогући даљи ток израде докторске тезе.

Комисија

1. Проф. др Бранислава Миљковић B. Mijlovic
2. Проф. др Свјетлана Стоисављевић-Шатара P. Stojanovic
3. Проф. др Јелица Предојевић-Самарцић J. Predojevic

Београд, Бањалука, јануара 2013. год.