

UDK 615 (497.11)

ISSN 0004-1963 (Štampano izd.)

ISSN 2217-8767 (Online)

ARHIV ZA FARMACIJU

Godina 65

Broj 6

Beograd, 2015.

ČASOPIS SAVEZA
FARMACEUTSKIH
UDRUŽENJA SRBIJE

6/2015

SADRŽAJ – CONTENTS**Kratka saopštenja – Short communications**

- Bratislav Dejanović, Milica Ninković, Ivana Stojanović, Irena Lavrnja, Tatjana Radičević, Ivana Stevanović 329

Agmatin u prevenciji akutne neurotoksičnosti izazvane hlorpromazinom kod pacova

Agmatine prevents acute chlorpromazine-induced neurotoxicity in rats

Stručni radovi – Professional papers

- Martina Martinović, Nina Stanković, Gordana Vuleta 350

Basiscreme DAC – karakteristike i mogućnost primene u izradi lekova u apoteci

Basiscreme DAC – characteristics and possibility of use for compounding drugs in pharmacy

- Ivan Jančić, Nevena Arsenović Ranin 367

Farmakogenetika i farmakogenomika - uticaj jednonukleotidnih polimorfizama na odgovor na lekove

Pharmacogenetics and pharmacogenomics - the impact of the single nucleotide polymorphisms in drug response

Prilozi – Contributions

- Spisak recenziranih radova objavljenih u Arhivu za farmaciju u 2015. godini 378

Obaveštenja – Informations

- Spisak studenata koji su završili diplomske osnovne studije na Univerzitetu u Beogradu – Farmaceutskom fakultetu u 2015. godini 382

- Spisak studenata koji su završili integrisane akademske studije na Univerzitetu u Beogradu – Farmaceutskom fakultetu u 2015. godini 385

- Spisak studenata koji su završili specijalizaciju zdravstvenih radnika i zdravstvenih saradnika na Univerzitetu u Beogradu – Farmaceutskom fakultetu u 2015. godini 395

- Spisak studenata koji su završili specijalističke akademske studije na Univerzitetu u Beogradu – Farmaceutskom fakultetu u 2015. godini 398

- Spisak odbranjenih doktorskih disertacija na Univerzitetu u Beogradu – Farmaceutskom fakultetu u 2015. godini 410

- 11. Centralnoevropski simpozijum iz farmaceutske tehnologije 415

Agmatin u prevenciji akutne neurotoksičnosti izazvane hlorpromazinom kod pacova

Bratislav Dejanović^{1*}, Milica Ninković², Ivana Stojanović³,
Irena Lavrnja⁴, Tatjana Radičević⁵, Ivana Stevanović²

¹Vojnomedicinski centar „Karaburma”, Beograd, Srbija;

²Institut za medicinska istraživanja, Vojnomedicinska akademija, Beograd, Srbija;

³Institut za biohemiju, Medicinski fakultet, Univerzitet u Nišu, Niš, Srbija;

⁴Institut za biološka istraživanja „Siniša Stanković”, Univerzitet u Beogradu, Beograd, Srbija;

⁵Institut za higijenu i tehnologiju mesa, Beograd, Srbija

*Corresponding author: Bratislav Dejanovic, Military Medical Center „Karaburma”; Severni bulevar 1; Belgrade, Serbia;
tel: +381 11 3609372; fax: +381 11 2662722 E-mail: bracadejanovic@yahoo.com

Kratak sadržaj

Ova studija se bavi ispitivanjem potencijalno zaštitnih efekata agmatina (AGM) na razvoj oksidativnog/nitrozativnog stresa u selektivno osetljivim strukturama mozga pacova nakon davanja hlorpromazina (HPZ). Sve ispitivane supstance aplikovane su u pojedinačnoj dozi intraperitonealno (i.p.). Životinje su podeljene na kontrolnu (K, 0.9 % fiziološki rastvor), HPZ (HPZ, 38.7 mg/kg TM), HPZ+AGM (AGM, 75 mg/kg TM odmah nakon HPZ, 38.7 mg/kg TM i.p.) i AGM (AGM, 75 mg/kg TM) grupu i žrtvovane dekapitacijom 24 h nakon odgovarajućeg tretmana. Rezultati pokazuju da primena HPZ sa AGM značajno smanjuje koncentraciju leka u mozgu pacova u poređenju sa HPZ-životinjama ($p<0.05$). Aplikacija HPZ povećava lipidnu peroksidaciju ($p<0.001$ u korteksu, strijatumu i hipokampusu), koncentraciju nitrita i nitrata ($p<0.001$ u sva tri ispitivana regiona mozga) i stvaranje superoksidnog anjon radikala ($p<0.05$ u sve tri moždane strukture) u odnosu na odgovarajuću kontrolu, dok istovremeno utiče na oštećenje enzimskog antioksidativnog sistema (superoksid dizmutaza u korteksu i strijatumu $p<0.05$, odnosno hipokampusu $p<0.001$; glutation reduktaza u kori mozga i strijatumu $p<0.001$, odnosno hipokampusu $p<0.05$; katalaza u korteksu $p<0.001$, odnosno

strijatumu i hipokampusu $p<0.05$). Međutim, tretman sa AGM značajno smanjuje parametre oksidativnog stresa u odnosu na HPZ-grupu (lipidna peroksidacija u korteksu $p<0.001$, strijatumu $p<0.01$ i hipokampusu $p<0.05$; koncentracija nitrita i nitrata u sve tri moždane strukture $p<0.001$) i vraća antioksidativni kapacitet na kontrolne vrednosti u svim ispitivanim moždanim strukturama. Imunohistohemijsko bojenje GFAP molekula kod pacova pokazuje povećanje broja pozitivnih ćelija 24 h nakon akutnog davanja HPZ. Svi prikazani rezultati pokazuju da AGM može biti efikasan u sprečavanju oštećenja mozga izazvanog HPZ kod pacova.

Ključne reči: Agmatin, Antioksidativna odbrana, Mozak, Hlorpromazin, Oksidativni stres

UVOD

Hlorpromazin (HPZ) je lek iz grupe fenotiazinskih antipsihotika (neuroleptika) i koristi se za lečenje shizofrenije i drugih oblika psihoza. Shizofrenija je jedno od najtežih psihiatrijskih oboljenja, kod koje su ekstrapiramidni simptomi i antiholinergički efekti jače izraženi pri terapiji HPZ u odnosu na druge antipsihotike (1). Mechanizam delovanja HPZ ostvaruje se dominantno blokadom dopaminskih (D_1 , D_2) i noradrenalinskih, ali u manjoj meri i muskarinskih acetilholinskih receptora. Sedativno delovanje posledica je antagonističkog dejstva na histaminske H_1 receptore (2).

Apsolutna bioraspoloživost peroralno unetog HPZ iznosi u proseku oko 32% unete doze. Lek se akumulira prvenstveno u mozgu, gde koncentracija može biti i 10 puta veća nego u plazmi (3). Pri trovanju HPZ dolazi do oštećenja jetre, kardiovaskularnog sistema, nervnog sistema, kao i oštećenja reproduktivnih organa (4, 5). Prema podacima Američkog udruženja centara za kontrolu trovanja, lekovi imaju značajan udeo u ukupnom broju trovanja, pri čemu HPZ ne spada u grupu najčešćih uzročnika samotrovanja, ali su akutna trovanja ovim lekom izuzetno teška (6).

Mozak je ciljni organ dejstva HPZ, posebno pri produženom davanju (7). Selektivna osetljivost pojedinih moždanih regiona na neurotoksične efekte HPZ rezultat je specifične biohemijске organizacije vulnerabilnih struktura. Toksični efekti HPZ na CNS ogledaju se u ireverzibilnom oštećenju i gubitku neurona u kori velikog mozga, strijatumu i hipokampusu (8).

Agmatin, (4-aminobutil)guanidin (AGM) je biogeni amin koji nastaje dekarboksilacijom L-arginina i uključuje se u veliki broj mehanizama i interakcija sa drugim neurotransmiterskim sistemima, zbog čega je poznat kao neurotransmiter i neuromodulator (9). Terapijski potencijal AGM kao suplementa ukoliko se primenjuje 4-6 nedelja svakodnevno potvrđen je kod odraslih pacova kako na bihevioralnom, tako

i na neurohemiskom nivou (10). Dokazana je i povećana koncentracija AGM u plazmi kod nekih psihijatrijskih oboljenja (shizofrenija i depresija) (11, 12). Istraživanja na životinjama pokazuju da AGM aplikovan intračelijski ili sistemski smanjuje propadanje neurona u patološkim stanjima, na primer, ishemiji (13) ili delovanju toksina (14).

Oksidativni stres je uključen u patofiziologiju različitih neuroloških oboljenja (15). Poznato je da se dodavanjem elektrona ili transferom energije na molekularni kiseonik (O_2) može povećati njegova reaktivnost kada nastaju reaktivne vrste kiseonika (RVK) (16). Jednoelektronskom redukcijom O_2 nastaje superoksid anjon radikal ($O_2^{\cdot-}$), koji može da reaguje sa drugim molekulima (azot-monoksid - NO^{\cdot}), kada nastaje izrazito reaktivni peroksinitrit ($ONOO^{\cdot-}$) (17).

Najizraženiji negativni efekat delovanja slobodnih radikala (SR) je oksidacija višestruko nezasićenih masnih kiselina sadržanih u ćelijskim membranama, poznata kao lipidna peroksidacija (LPO), tokom koje dolazi do oštećenja plazma membrane (18). Proces LPO otpočinje interakcijom polinezasičene masne kiseline sa oksidansom, pri čemu nastaje lipidni slobodni radikal. Formirani peroksil radikal sa alkilnim vodonikom susednog molekula nezasićene masne kiseline formira hidroperoksid i novi alkil radikal, čime pokreće autokatalitički ciklus. Kao krajnji proizvod ove kaskade reakcija nastaje malondialdehid (MDA), koji predstavlja bioheminski marker stepena oksidativnog oštećenja ćelijskih membrana.

Oksidativni stres i produkti LPO uključeni su u patofiziologiju različitih oboljenja, kao i u mehanizam toksičnih dejstava mnogih ksenobiotika (19).

Sve ćelijske strukture su potencijalna meta za oksidativna oštećenja i zato su se u ćeliji razvili različiti antioksidativni mehanizmi (AOS) zaštite, podeljeni na enzimske (superoksid dismutaza - SOD, katalaza - CAT, glutation peroksidaza - GPx, glutation reduktaza - GR, glutation S transferaza) i neenzimske (glutation) komponente (20).

Studije su pokazale da hronična intraperitonealna (*i.p.*) primena HPZ (21 dan u dozi od 5 mg/kg telesne mase - TM) povećava stvaranje SR i oksidativni stres (indukuje LPO, odnosno smanjuje nivo glutationa i aktivnost antioksidativnih enzima SOD i CAT) u mozgu pacova (21). Histološki dokazi ukazuju da jedan od puteva oštećenja ćelija indukovanih HPZ uključuje inflamatorne ćelije, prvenstveno reaktivnu mikrogliju, koja kod akutno otrovanih pacijenata može biti izvor citokina i učestvovati u aktivaciji proteina komplementa (1). Imunoreaktivnost astrocita se može detektovati markiranjem glijalnim fibrilarnim kiselim proteinom (glial fibrilar acidic protein – GFAP) (22).

U radu je praćeno da li se u osnovi štetnih efekata ovog antipsihotika nalazi oksidativni stres, kao i povezanost oksidativnog statusa sa morfološkim promenama moždanog tkiva. U skladu sa tim, ispitivano je da li davanje AGM kod jednokratne

primene visokih doza HPZ utiče i na oksidativno oštećanje i AOS zaštite organizma pacova.

MATERIJAL I METODE

Eksperimentalne životinje - U istraživanje su bili uključeni odrasli mužjaci pacova *Wistar* soja, starosti 7 nedelja, prosečne TM 250 grama. Životinje su odgajene na Farmi za uzgoj laboratorijskih životinja VMA-Torlak, a zatim su prebačene i čuvane u vivarijumu Instituta za medicinska istraživanja Vojnomedicinske akademije (VMA). Tokom rada sa životinjama poštovani su Etički principi rada na laboratorijskim životinjama VMA u Beogradu (broj dozvole 24022014/2 izdatog rešenja o odobrenju sprovođenja ogleda na životinjama).

Životinje su čuvane u vivarijumu, na temperaturi 22 ± 2 °C sa ciklusom svetlost/tama (12h/12h). U svakom kavezu bile su smeštene po 2 životinje nakon primjenjenog odgovarajućeg tretmana i sve su tokom eksperimenta boravile pod jednakim uslovima, sa slobodnim pristupom vodi i hrani.

Eksperimentalni protokol - U toku akutnog trovanja životinje su primile jednokratno toksičnu dozu HPZ (Largactil®, Galenika, Srbija), u dozi od 38,7 mg/kg *i.p.* (23). U ovaj deo bile su uključene sledeće eksperimentalne grupe: kontrola–životinje su dobile fiziološki rastvor (1 ml/kg *i.p.*) ($n = 10$); grupa HPZ–životinje su dobile HPZ, a neposredno nakon toga fiziološki rastvor (1 ml/kg *i.p.*) ($n = 10$); grupa HPZ+AGM–životinje su dobile HPZ, a odmah zatim i AGM u dozi od 75 mg/kg *i.p.* ($n = 10$); grupa AGM–životinje su dobile fiziološki rastvor (1 ml/kg *i.p.*), a odmah nakon toga AGM u dozi od 75 mg/kg *i.p.* ($n = 10$). Nakon 24 h od primene odgovarajućeg tretmana životinje su najpre uvedene u anesteziju Pentobarbiton-natrijumom u dozi od 0,04 g/kg TM *i.p.*, a zatim je iz svake eksperimentalne grupe po 2-3 životinje perfundovano 0,9 % fiziološkim rastvorom tokom 5 minuta i žrtvovano dekapitacijom posle čega je tkivo mozga dalje pripremano za imunohistohemiju analizu. Preostale životinje iz svake eksperimentalne grupe ($n = 6$) su odmah žrtvovane dekapitacijom i uzimano je moždano tkivo za merenje koncentracije leka, odnosno određivanje parametara oksidativnog statusa.

Određivanje koncentracije HPZ - Za određivanje koncentracije HPZ u uzorcima tkiva mozga 24 h nakon akutnog tretmana HPZ i ili AGM korišćena je HPLC MS/MS metoda. Analiza uzorka tkiva rađena je u pozitivnom ESI modu za jonske mase m/z 319,3 → 86, 319,3 → 245,9 za HPZ. Koncentracija HPZ određivana je u mozgu životinja primenom visoko efikasne tečne hromatografije sa masenom detekcijom (HPLC MS/MS) (24). Kalibracione krive HPZ dobijene su izračunavanjem faktora iz odnosa površina hromatografskih pikova. Jednačine prave izračunate su primenom linearne regresione analize. Izračunavanje koncentracije HPZ rađeno je na osnovu jednačine kalibracione krive koja je dobijena nakon analize uzorka tkiva mozga opterećenih standardnim rastvorom HPZ i internog standarda acepromazina.

Određivanje parametara oksidativnog statusa u homogenatima mozga

Priprema tkiva - Za određivanje parametara oksidativnog statusa, odmah nakon dekapitacije moždano tkivo je zamrzavano u tečnom azotu i ostavljeno na -70°C za dalju analizu. Nakon nepotpunog odmrzavanja, brzim postupkom na ledu izdvajane su strukture: kora prednjeg mozga, striatum i hipokampus. Priprema tkiva za analize vršena je homogenizacijom na 800 obrtaja/min u staklenom homogenizeru marke Schüett-biotec na ledu, u hladnom puferizovanom saharoznom medijumu. Nakon 2 uzastopna centrifugiranja (Beckman J-21, rotor J-20) na 1000 g, u trajanju od 15 minuta na $+4^{\circ}\text{C}$, odvojeni supernatant je sonifikovan (MSE, P631555) radi liziranja membrana subcelularnih struktura i predstavlja neprečišćenu mitohondrijalnu frakciju (25). Dobijeni supernatant čuvan je na -70°C za dalje određivanje koncentracije proteina metodom po Lowryju (26) i merenje parametara oksidativnog statusa.

Određivanje koncentracije tiobarbiturna kiselina (TBA)-reagujućih supstanci (TBARS) - U homogenatima tkiva MDA reaguje sa tiobarbiturnom kiselinom (TBA) stvarajući obojeni kompleks jako žute boje čiji se intenzitet meri spektrofotometrijski na 492-650 nm (27). 200 μL uzorka i 400 μL TBA reagensa (15 % trihlorsirćetna kiselina, 0,375 % TBA i 0,25 M/L hlorovodonične kiseline) zagrevano je na 95°C tokom 5 minuta, ohlađeno i centrifugirano 1 minut na 3000 x g, nakon čega je po 300 μL supernatanta razliveno u ploču. Vrednost apsorbancije očitana je na ELISA spektrofotometru, a koncentracija TBARS izražena je u nM MDA/mg proteina.

Određivanje sadržaja nitrita i nitrata (NO_2+NO_3) - Koncentracija NO_2+NO_3 je u homogenatima tkiva određivana Griessovom metodom po proceduri Navarro-Gonzálvez (28). Pošto Griessov reagens ne reaguje sa nitratima, neophodno je pre kolorimetrijske reakcije, dodati po jednu aktiviranu granulu kadmijuma (granule u 5 mM/L rastvoru CuSO_4 u glicin-NaOH puferu) u sve uzorke, da bi se efikasno izvršila redukcija nitrata. Griess I reagens (sulfanilna kiselina) i nitritni ion u jako kiseloj sredini stvaraju diazonijum-jedinjenje, koje reaguje sa Griess II reagensom (α -naftilamin) pri pH 2,0-2,5 formirajući azo-jedinjenje crvenkasto ljubičaste boje, čija je izmerena apsorbancija na 492 nm korišćena za spektrofotometrijsko određivanje koncentracije NO_2+NO_3 u homogenatima tkiva i izražena je u nM/mg proteina.

Stvaranje superoksidnog anjon radikala (O_2^-) - Redukcija nitroblu tetrazolijuma (NBT) do nitroblu-formazana koristi se kao mera stvaranja O_2^- u hemijskim i biološkim sistemima (29). U vodenim rastvorima reakcije koje stvaraju O_2^- dovode do nepotpune redukcije NBT do monoformazana. U oksidovanoj formi NBT je žuta supstanca rastvorljiva u vodi, dok je njegova redukcija u diformazan praćena promenom u intenzivnu plavu boju i smanjenjem rastvorljivosti. Reakcija je otpočinjala dodavanjem 0,05 mL uzorka u 1 mL reakcione smeše (1mM NBT i 0,1 mg/mL želatina), izložene dejstvu azota pod pritiskom 60 minuta, što je imalo za cilj da smanji napon kiseonika u medijumu. Promena ekstinkcije praćena je u toku 5 minuta na talasnoj dužini 550 nm, a stvaranje O_2^- izraženo je kao μM redukovanih NBT/min/mg proteina.

Određivanje aktivnosti SOD - Aktivnost ukupne SOD u homogenatima tkiva zasniva se na sposobnosti SOD da inhibira spontanu autooksidaciju adrenalina u baznoj sredini na pH 10,2. Enzim SOD katalizuje reakciju neutralisanja O_2^- , čime inhibira spontanu autooksidaciju adrenalina. Aktivnost ukupne SOD određivana je kinetički, kao promena apsorbancije u vremenu na talasnoj dužini od 480 nm (30). Reakcionala smeša je sadržala 50 μ L uzorka, 2,85 mL Na-bikarbonatnog pufera i 100 μ L adrenalina. Jedinica aktivnosti SOD definiše se kao količina enzima koja dovodi do 50 % inhibicije autooksidacije adrenalina u linearnom delu promene apsorbance u minuti. Aktivnost ukupne SOD izražena je u jedinicama po miligramu proteina (Jed./mg proteina).

Određivanje koncentracije ukupnog glutationa - Za određivanje koncentracije ukupnog glutationa korišćena je DTNB-GSSG reciklirajuća metoda koja je veoma senzitivna za određivanje ukupnog glutationa ($GSH + 1/2GSSG$, u GSH ekvivalentima), jer kombinuje kolorimetrijsku reakciju DTNB sa specifičnošću GR. U reakcionu smešu (700 μ L radnog pufera - NADH u Na-fosfatnom puferu) je dodato 100 μ L DTNB, 175 μ L vode i 25 μ L uzorka. Reakcija je započeta dodavanjem 10 μ L GR (266 IJ/mL). Nivo stvaranja 5-tio-2-nitrobenzoične kiseline (TNB), koji je proporcionalan ukupnoj koncentraciji glutationa, prati se spektrofotometrijski na 412 nm tokom 6 min (31). Kao standard korišćen je 50 mM GSSG, od koga su pravljena odgovarajuća razblaženja. U datom opsegu koncentracija, ostvarena je linearost standardne krive, a na osnovu jednačine te prave izračunat je sadržaj ukupnog glutationa, koji je izražen u nM/mg proteina.

Određivanje aktivnosti GPx - Ransel kit za određivanje GPx (Randox Laboratories Ltd., Ardmore, Diamond Road, Crumlin, Co. Atrim, United Kingdom) korišćen je za indirektno merenje aktivnosti GPx (32). Princip metode zasniva se na redukciji organskih peroksida, pri čemu se stvara GSSG preko citoplazmatske GPx, koji se vraća u redukovano stanje sa iskorišćavanjem NADPH u reakciji koju katalizuje enzim GR. Oksidacija NADPH u $NADP^+$ povezana je sa promenom, odnosno smanjenjem apsorbancije na 340 nm, što se određuje spektrofotometrijski i predstavlja meru aktivnosti GPx u vezanoj reakciji u kojoj učestvuje i GR. Jedinica enzimske aktivnosti GPx definiše se kao broj μ M oksidovanog NADPH u minuti, a aktivnost GPx u ispitivanim uzorcima izražena je u jedinicama po miligramu proteina (Jed./mg proteina).

Određivanje aktivnosti GR - Princip metode za određivanje aktivnosti GR zasniva se na sposobnosti GR da katalizuje reakciju redukcije GSSG u GSH uz oksidaciju koenzima NADPH do $NADP^+$. U 0,2 mL 1 mM NADH dodato je 0,03 mL uzorka i 0,03 mL 4 mM GSSG i inkubirano 15 minuta na 37 °C, a zatim je dodato 0,1 mL 0,1 M HCl i 1 mL 6 M NAOH i samo u kontrolu 0,03 mL 4 mM GSSG. Od ukupne zapremine, 0,3 mL je razliveno u ploču i čitano na fluorimetru na λ_{Ex} -360 nm, λ_{Em} -460 nm (33). Kao standard je u reakciji korišćen 100 mM NAD^+ , od koga su pravljena odgovarajuća razblaženja. Jedinica aktivnosti enzima GR definiše se kao broj μ M oksidovanog

NADPH u minuti, a aktivnost enzima predstavljena je u jedinicama po miligramu proteina (Jed./mg proteina).

Određivanje aktivnosti CAT - Aktivnost CAT određivana je spektrofotometrijskom metodom. Amonijum molibdat formira žuti kompleks sa H_2O_2 (34). Uzorak (0,1 mL) je inkubiran 1 minut sa 0,5 mL 65 μM H_2O_2 , i reakcija je zaustavljena dodavanjem 0,5 mL 32,4 mM amonijum molibdata. Absorbanca između žućkastog molibdata i H_2O_2 kompleksa u odnosu na blank čita se na 405 nm. Jedinica aktivnosti CAT definiše se kao broj $\mu M H_2O_2$ redukovanih u minuti, a aktivnost enzima izražena je u jedinicama po miligramu proteina (Jed./mg proteina).

Imunohistohemijske analize – Nakon uvodenja u anesteziju, životinje su najpre perfundovane sa 0,9 % fiziološkim rastvorom u zapremini od 50 mL i trajanju od 5 minuta, a zatim žrtvovane dekapitacijom. Moždano tkivo je uronjeno u 4 % PFA, seriju rastvora saharoze (koncentracije 10 % - 30 %) i izopentan pre zamrzavanja na $-70^{\circ}C$, do dalje imunohistohemijske analize (35). Kriostatski preseci tkiva pravljeni su na klasičnom kriotomu (Leica CM 1850) na temperaturi od $-23^{\circ}C$, debljine 20 μm . Nakon odmrzavanja, pločice su inkubirane 20 minuta sa inaktivisanim normalnim serumom magarca, a zatim ostavljene 15 minuta u rastvoru metanola sa 1 % H_2O_2 . Nakon toga, preseci su najpre inkubirani 60 minuta sa specifičnim zečjim poliklonskim antitelom koje markira GFAP (razblaženje 1:500, Dako, Denmark) i predstavlja specifični marker astrocita (36), a zatim i 30 minuta sa sekundarnim antitetom (α mišji Ig HRP ili α zečiji HRP) konjugovanim peroksidazom (razblaženje 1:250) sa dodatkom 2 % normalnog magarećeg seruma (NDS). Radi vizualizacije peroksidazne reakcije supstrat (3'3 diaminobenzidin - DAB i 0,01 % H_2O_2 u TBS) je inkubiran 10 minuta, a zatim su preseci kontrastirani u hematoksilinu i montirani Kajzerovim glicerinsko-želatinskim gelom. Histološka analiza je vršena na svetlosnom mikroskopu.

Vrsta studije, veličina uzorka i statistička obrada rezultata - *One-way ANOVA* i *Tukey's post hoc* testovi su korišćeni (software *GraphPad Prism, version 5.01*) za statističku obradu podataka. Vrednosti su prezentovane kao srednja vrednost \pm standardna devijacija. Koeficijent korelacije je testiran *Spearman*-ovim testom.

REZULTATI

Kod kontrolnih životinja nije uočena bilo kakva promena ponašanja u toku trajanja eksperimenta. Životinje koje su dobole jednokratno toksičnu dozu HPZ bile su motorno usporene do termina žrtvovanja (24 h) i u prvih par sati nesposobne da pridu hrani i vodi. Kod životinja koje su dobole AGM nakon HPZ, kao i kod životinja koje su dobole samo AGM, vizuelno nisu uočene bilo kakve razlike u motorici i ponašanju u odnosu na kontrolnu grupu.

Distribucija i akumulacija HPZ u mozgu pacova 24 h nakon akutnog tretmana – U kontrolnoj grupi, kao i kod životinja koje su dobole samo AGM

jednokratno nije izmerena koncentracija leka nakon 24 h u mozgu (Tabela I). Međutim, rezultati naših istraživanja pokazuju da kombinovano davanje HPZ sa AGM nakon 24 h smanjuje koncentraciju HPZ za 76% u mozgu pacova u odnosu na HPZ grupu životinja.

Tabela I Koncentracija HPZ (ppm) u mozgu pacova 24 h nakon odgovarajućeg tretmana. Vrednosti su izražene kao srednja vrednost \pm SD. Simboli označavaju statistički značajnu razliku u odnosu na kontrolnu grupu (*) i grupu životinja koja je dobila HPZ (#). Statistički značajna razlika je predstavljena kao *# $p < 0.05$ (One Way ANOVA, Tukey's test).

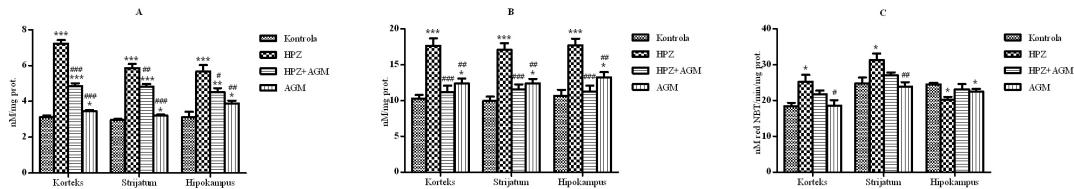
Table I HPZ concentration (ppm) in the rat brain 24 hours after appropriate treatment. Values are presented as mean \pm SD. Labels of statistical significance: compared to control group (*) and HPZ-group (#). Statistical significance was considered at *# $p < 0.05$ (One Way ANOVA, Tukey's test).

	Koncentracija HPZ (ppm)
Kontrola	-
HPZ	8,26 \pm 2,02*
HPZ + AGM	1,93 \pm 1,16*#
AGM	-

Parametri oksidativnog statusa 24 h nakon akutnog tretmana - Akutna primena HPZ nakon 24 h u svim ispitivanim moždanim strukturama dovodi do povećanja koncentracije TBARS u odnosu na kontrolne grupe, koja se značajno smanjuje nakon davanja AGM uz HPZ (Slika 1A). Davanje čistog AGM smanjuje koncentraciju TBARS posle 24 h u svim strukturama mozga u odnosu na kombinovani tretman (HPZ+AGM), dok povećava sadržaj TBARS u odnosu na kontrolu.

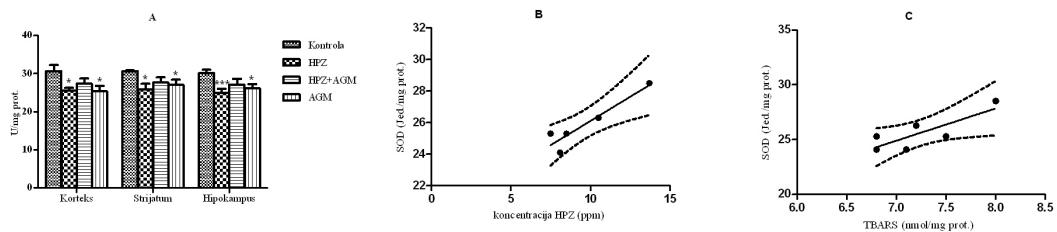
Akutno davanje HPZ povećava koncentraciju NO_2+NO_3 u svim ispitivanim moždanim strukturama u odnosu na kontrolne grupe (Slika 1B). Međutim, davanje AGM posle HPZ uspešno je smanjilo koncentraciju NO_2+NO_3 u svim strukturama mozga posle 24 h u odnosu na HPZ grupu. Primenom čistog AGM posle 24 h takođe je dobijena smanjena koncentracija NO_2+NO_3 u odnosu na HPZ grupu i povećana koncentracija NO_2+NO_3 u odnosu na odgovarajuću kontrolu u svim strukturama mozga.

Akutna primena HPZ nakon 24 h dovodi do povećanog stvaranja O_2^- u regionu kore prednjeg mozga i strijatuma, dok je u hipokampusu registrovano smanjeno stvaranje O_2^- u odnosu na odgovarajuću kontrolnu grupu (Slika 1C). Smanjena proizvodnja O_2^- kod životinja tretiranih samo AGM registrovana je u korteksu i strijatumu posle 24 h u odnosu na HPZ grupu životinja, dok je u hipokampusu izmereno smanjeno stvaranje O_2^- u odnosu na kontrolnu grupu.



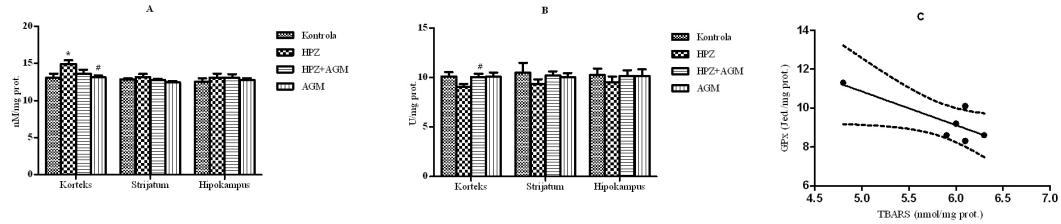
Slika 1A-C. Sadržaj TBARS (A), koncentracija NO_2+NO_3 (B) i stvaranje O_2^- (C) u kori prednjeg mozga, strijatumu i hipokampusu pacova 24 h nakon odgovarajućeg tretmana. Vrednosti su izražene kao srednja vrednost \pm SD za 6 životinja u svakoj grupi. Simboli označavaju statistički značajnu razliku u odnosu na kontrolnu grupu (*) i grupu životinja koja je dobila HPZ (#). Statistički značajna razlika je predstavljena kao: *# $p < 0.05$, **## $p < 0.01$ i ***### $p < 0.001$ (One Way ANOVA, Tukey's test).

Figure 1A-C. TBARS concentration (A), nitrite and nitrate concentration (B) and O_2^- production (C) in the rat forebrain cortex, striatum and hippocampus 24 hours after appropriate treatment. Bars in the graph represent mean \pm SD from 6 animals for each group. Labels of statistical significance: compared to control group (*) and HPZ-group (#). Statistical significance was considered at: *# $p < 0.05$, **## $p < 0.01$ and ***### $p < 0.001$ (One Way ANOVA, Tukey's test).



Slika 2A-C. Aktivnost SOD (A) u korteksu, strijatumu i hipokampusu 24 h nakon odgovarajućeg tretmana. Korelacija između aktivnosti SOD i koncentracije HPZ (B), odnosno koncentracije TBARS (C) u korteksu 24 h nakon davanja HPZ. Vrednosti su izražene kao srednja vrednost \pm SD. Simboli označavaju statistički značajnu razliku u odnosu na kontrolnu grupu (*). Statistički značajna razlika je predstavljena kao * $p < 0.05$ (One Way ANOVA, Tukey's test).

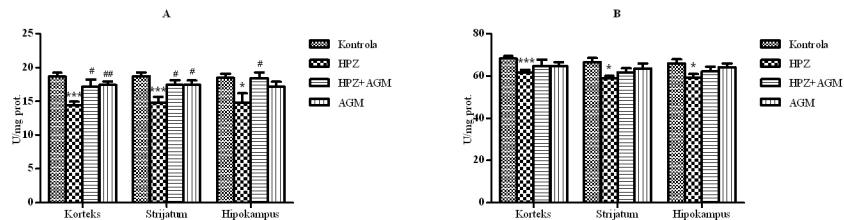
Figure 2A-C. SOD activity (A) in the rat forebrain cortex, striatum and hippocampus 24 hours after appropriate treatment. The correlation between SOD activity and both HPZ concentration (B) or TBARS concentration (C) in the forebrain cortex 24 hours after HPZ injection. Bars in the graph represent mean \pm SD. Labels of statistical significance compared to control group (*). Statistical significance was considered at: * $p < 0.05$ (One Way ANOVA, Tukey's test).



Slika 3A-C. Koncentracija glutationa (A) i aktivnost GPx (B) u kori prednjeg mozga, strijatumu i hipokampusu pacova 24 h nakon odgovarajućeg tretmana.

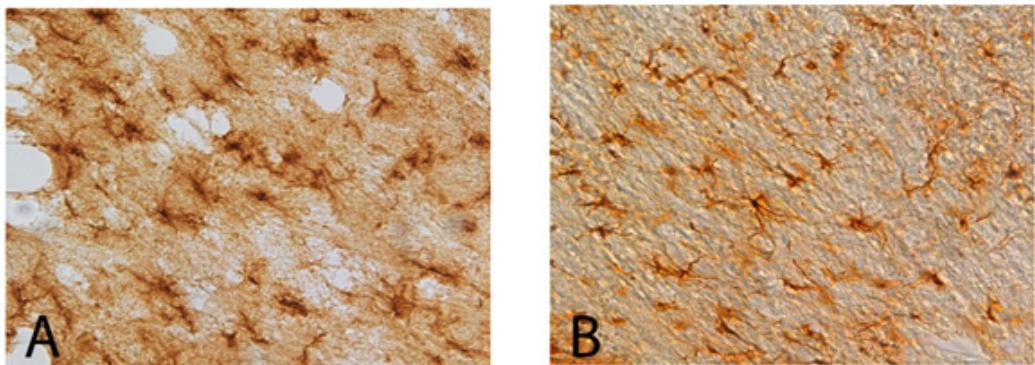
Korelacija između aktivnosti GPx i koncentracije TBARS (C) u strijatumu 24 h posle davanja HPZ. Vrednosti su izražene kao srednja vrednost \pm SD. Simboli označavaju statistički značajnu razliku u odnosu na kontrolnu grupu (*) i grupu životinja koja je dobila HPZ (#). Statistički značajna razlika je predstavljena kao *#p < 0.05 (One Way ANOVA, Tukey's test).

Figure 3A-C. GSH content (A) and GPx activity (B) in the rat forebrain cortex, striatum and hippocampus 24 hours after appropriate treatment. The correlation between GPx activity and TBARS concentration (C) in the striatum 24 hours after HPZ injection. Bars in the graph represent mean \pm SD. Labels of statistical significance: compared to control group (*) and HPZ-group (#). Statistical significance was considered at *#p < 0.05 (One Way ANOVA, Tukey's test).



Slika 4A, B. Aktivnost GR (A) i aktivnost CAT (B) u kori prednjeg mozga, strijatumu i hipokampusu pacova 24 h nakon odgovarajućeg tretmana.
Vrednosti su izražene kao srednja vrednost \pm SD za 6 životinja u svakoj grupi. Simboli označavaju statistički značajnu razliku u odnosu na kontrolnu grupu (*) i grupu životinja koja je dobila HPZ (#). Statistički značajna razlika je predstavljena kao: *#p < 0.05, **##p < 0.01 i ***##p < 0.001 (One Way ANOVA, Tukey's test).

Figure 4A, B. GR activity (A) and CAT activity (B) in the rat forebrain cortex, striatum and hippocampus 24 hours after appropriate treatment. Bars in the graph represent mean \pm SD from 6 animals for each group. Labels of statistical significance: compared to control group (*) and HPZ-group (#). Statistical significance was considered at: *#p < 0.05, **##p < 0.01 and *##p < 0.001 (One Way ANOVA, Tukey's test).**



Slika 5. Imunohistohemijsko bojenje mozga pacova primenom GFAP monoklonskog antitela u kontroli (A) i 24 h nakon primene HPZ (B). Uvećanje x 400. Podaci su statistički upoređeni između grupa korišćenjem Studentovog t-testa ($p < 0.05$).

Figure 5. The representative photomicrographs of GFAP staining by immunohistochemistry of brain sections in control group (A) and HPZ group (B) 24 hours after application. Original magnification x 400. The data were statistically compared between groups by Student's t-test ($p < 0.05$).

Akutno davanje HPZ posle 24 h dovodi do smanjenja aktivnosti SOD u svim moždanim regionima u odnosu na kontrole (Slika 2A). Kod životinja koje su dobile samo AGM posle 24 h smanjena je aktivnost SOD u svim strukturama mozga u odnosu na odgovarajuće kontrole.

Rezultati studije pokazuju da postoji pozitivna korelacija između aktivnosti SOD i koncentracije HPZ (Slika 2B), odnosno koncentracije TBARS (Slika 2C) u korteksu pacova 24 h posle primene HPZ.

U kori prednjeg mozga je u terminu 24 h pronađen povećan sadržaj ukupnog glutationa u HPZ grupi u odnosu na kontrolnu grupu, dok je u AGM grupi došlo do smanjenja koncentracije ukupnog glutationa u odnosu na HPZ grupu (Slika 3A).

Kombinovano davanje HPZ sa AGM vratilo je vrednosti enzima GPx na kontrolne u regionu kore prednjeg mozga 24 h nakon tretmana (Slika 3B).

Rezultati studije pokazuju prisustvo negativne korelacije između aktivnosti GPx i koncentracije TBARS u strijatumu 24 h nakon davanja HPZ (Slika 3C).

U svim ispitivanim selektivno osetljivim strukturama mozga akutno davanje HPZ smanjuje aktivnost GR, koje se vraća na kontrolni nivo posle davanja AGM sa HPZ (Slika 4A). Primena samo AGM nakon 24 h značajno povećava aktivnost enzima u korteksu i strijatumu u odnosu na HPZ grupu životinja.

Akutno davanje HPZ smanjuje aktivnost CAT u svim regionima mozga u odnosu na kontrole (Slika 4B).

Efekat HPZ na imunomorfološke promene u mozgu Wistar pacova - Ekspresija GFAP molekula u mozgu pacova kontrolne grupe bila je umerenog intenziteta (+). U pojedinim zonama mozga zapažena je povećana imunoreaktivnost glijalnih ćelija, u smislu povećanja broja GFAP pozitivnih ćelija i intenziteta imunohistohemijске reakcije 24 h (++) nakon akutnog davanja HPZ (Slika 5).

DISKUSIJA

Poznato je da davanje HPZ dovodi do njegove akumulacije u ćelijama i tkivima, a time i u organizmu (37). Rezultati naše studije pokazuju da 24 h nakon akutne primene AGM sa HPZ dolazi do značajne redukcije koncentracije HPZ u mozgu u odnosu na životinje koje su dobile samo HPZ, što pokazuje da prisustvo AGM smanjuje i odlaže resorpciju HPZ (Tabela I).

Efekti HPZ na mozek se danas u velikom broju ispitivanja dovode u vezu sa nastankom RVK i RV azota. Ipak, najviše nalaza postoji o oksidativnom oštećenju lipida, odnosno LPO. Ova studija pokazuje da nakon akutne *i.p.* primene HPZ dolazi do povećanog sadržaja TBARS (Slika 2A) u svim ispitivanim selektivno osetljivim strukturama mozga. Ovi rezultati su u saglasnosti sa istraživanjima drugih studijskih grupa, u kojima je pokazano da u mozgu eksperimentalnih životinja nakon primene HPZ dolazi do oštećenja membrana kroz proces LPO (7, 21, 39). S obzirom da je oksidativni stres uključen u patogenezu različitih patoloških stanja nakon davanja ksenobiotika, stepen LPO neuronskih membrana predstavlja indikator oksidativnog stresa koji dovodi do poremećaja funkcije neurona (40). Povećanje sadržaja TBARS registrovano u regionu strijatum 24 h od akutnog davanja HPZ, može se objasniti činjenicom da je striatum struktura koja je najbogatija gvožđem, preko koga HPZ pokreće proces LPO. Takođe, veoma je visok metabolički obrt dopamina, pri čemu se generiše H_2O_2 . Dalje, dolazi do autooksidacije dopamina i proizvodnje O_2^- , čime se stvaraju uslovi za stvaranje OH^- , koji je veoma agresivan i pokreće proces LPO (41).

Primena AGM sa HPZ značajno smanjuje koncentraciju TBARS u svim strukturama mozga u odnosu na grupu sa HPZ nakon akutnog tretmana, što ukazuje da AGM ispoljava svoje protektivne efekte modulacijom aktivnosti enzimskih markera, LPO i povećanjem kapaciteta AOS. Tretman sa AGM redukuje oksidativno oštećenje, verovatno sa kapacitetom da brzo i efikasno ukloni lipidne peroksil radikale pre nego oni napadnu membranske lipide (42). Ovi rezultati potvrđuju ulogu AGM u zaštiti ćelijske membrane, sa aspekta sprečavanja njenog oksidativnog oštećenja, čime se doprinosi održavanju redoks ravnoteže u ćeliji i sprečava ćelijsku smrt.

Poznato je da u različitim regionima mozga NO moduliše sinaptičku funkciju i, menjajući oslobađanje neurotransmitera sa presinaptičkih nervnih završetaka, utiče na Ca^{2+} -zavisnu egzocitozu. Aktivacija NMDA receptora glutamatom, uzrokuje influkus jona Ca^{2+} , koji se vezuje za kalmodulin i aktivira NOS, koja konvertuje O_2 i arginin u citrulin i NO, pri čemu NO zauzima značajno mesto u reakcijama koje posreduju kalmodulin i ciklični guanozin monofosfat (cGMP) (43). U ovoj studiji, već 24 h nakon davanja HPZ u odnosu na kontrolnu grupu, izmereno je povećanje koncentracije NO_2+NO_3 u strijatumu, strukturi koja prima vlakna iz različitih izvora (Slika 1B). Pored direktnе veze hipokampa sa korteksom, iz istih regiona kore velikog mozga postoji direktna komunikacija sa strijatuumom preko kortikostrijatnih vlakana, što predstavlja neuroanatomsku osnovu širenja oštećenja (8). Za ovakve rane promene izazvane HPZ, moguće je da prolongirano povećanje cAMP utiče na ćelijsku diferencijaciju i pojačano preuzimanje ekstracelularnog glutamata (44). U našem istraživanju su samo 24 h nakon davanja HPZ, brojne RVK odgovorne za prolongiranu povećanu koncentraciju NO_2+NO_3 , koja je registrovana i u regionu kore prednjeg mozga, kao i u hipokampusu, u odnosu na kontrolne životinje (Slika 1B). Pojačano oslobađanje glutamata i njegovo odloženo preuzimanje, aktivacija NMDA receptorskog mehanizma, pojačan influkus Na^+ , Cl^- , vode i Ca^{2+} , kao i produženo pražnjenje postsinaptičkih neurona, predstavljaju mehanizme koji su identifikovani kao indikatori selektivne regionalne osetljivosti neuronskih populacija (45).

Mehanizam oštećenja pokrenut HPZ je aktivirana ekscitotoksičnost i sa njom povezani poremećaji u metabolizmu NO, koji ukoliko se stvara nekontrolisano može učestvovati u oštećenju okolnih neurona (46). U našem radu, 24 h nakon akutne primene HPZ sa AGM došlo je do smanjenja koncentracije NO_2+NO_3 , u regionu hipokampa, u odnosu na grupu životinja koje su dobile samo HPZ (Slika 1B). Na ovom eksperimentalnom modelu je aplikacija AGM dovela do supresije NO_2+NO_3 i smanjenja oštećenja neurona. Dobijeni rezultati koji ukazuju na brojne kompleksne aferentne i eferentne veze hipokampa sa ostalim ispitivanim selektivno osetljivim strukturama mozga, pružaju osnovu da AGM utiče na preživljavanje i oporavak neurona nakon oštećenja u regionu kore prednjeg mozga, kao i strijatuma (Slika 1B).

Aplikacija čistog AGM nakon 24 h dovela je do povećanja koncentracije NO_2+NO_3 (Slika 1B) u svim ispitivanim strukturama mozga, u odnosu na kontrolne grupe životinja, što je praćeno povećanjem sadržaja TBARS (Slika 1A). Očigledno je da AGM pokazuje protektivne efekte u odnosu na ćelijsku membranu samo u prisustvu oksidativnog stresa, u ovom slučaju izazvanog HPZ. To bi ukazivalo da se aktivacija procesa peroksidacije kod primene AGM ne odvija preko NO, već preko drugog mogućeg puta, a to je formiranje OH^\cdot , koji je jedini u stanju da pokrene ove mehanizme (47).

Kora prednjeg mozga i striatum su moždane strukture u kojima postoji pogodna biohemija sredina za nastanak i propagaciju procesa stvaranja O_2^- (bogatstvo u NMDA receptorima), što objašnjava povećano stvaranje anjona 24 h nakon davanja HPZ u odnosu na kontrolu (Slika 1C). Dobijeni podaci pokazuju da je već 24 h nakon aplikacije HPZ u mozgu pacova uspostavljen proces stvaranja O_2^- i ukazuju da je redoks kruženje udruženo sa povećanjem koncentracije $NO_2^+NO_3^-$ uzrokovano toksičnim efektima HPZ, jer se ne uspostavlja redoks ravnoteža, odnosno održava se neadekvatna AOS.

Poznato je da preko sekundarnih glasnika, O_2^- može učestvovati u inicijaciji i terminaciji procesa LPO (39). U grupi životinja koje su dobile HPZ sa AGM posle 24 h pronađen je smanjeni sadržaj TBARS (Slika 1A) i nepromenjena koncentracija O_2^- (Slika 1C), u odnosu na HPZ grupu životinja. Dizmutacijom O_2^- od strane SOD, može se povećati lanac reakcija LPO, što ukazuje da SOD ima dvojno dejstvo, tj. da pored protektivnog efekta može i podržati proces. Preko OH^- posredno, H_2O_2 može dovesti do peroksidacije polinezasičenih masnih kiselina u ćelijskim membranama. S obzirom da je u terminu 24 h nakon akutnog davanja HPZ sadržaj TBARS povećan, moguće je da je proces LPO posredovan preko H_2O_2 ili $ONOO^-$. Povećanje sadržaja TBARS posle davanja HPZ očekivan je pokazatelj pokrenutih agresivnih, oksidativnih mehanizama, u odnosu na eksperimentalne grupe koje su, pored HPZ dobole i AGM, gde očigledno dolazi do supresije ovih procesa kroz aktivaciju AOS.

U cilju održavanja homeostaze, u ćeliji se kontinuirano obnavljaju antioksidativni kapaciteti. Ukoliko to obnavljanje nije adekvatno potrebama, oštećenja nastala putem prekomernog stvaranja SR akumuliraju se i učestvuju u patofiziološkim mehanizmima mnogih patoloških stanja. Naši rezultati pokazuju da je u regionu kore prednjeg mozga 24 h nakon davanja HPZ registrovano smanjenje aktivnosti ukupne SOD (Slika 2A) i povećano stvaranje O_2^- (Slika 1C) u odnosu na kontrolnu grupu, što ukazuje na prisustvo oksidativnog stresa. Ovakav nalaz ne mora biti posledica neadekvatne funkcije, već postignute saturacije enzima, tako da odnos O_2^-/SOD predstavlja najbolji pokazatelj intenziteta oksidativnog stresa u tkivu. Sa druge strane, u ovom ranom terminu (24 h) od aplikacije HPZ i $ONOO^-$ može biti uključen u oštećenje samog enzima. Korelativna analiza je pokazala da u ovoj moždanoj strukturi postoji pozitivna korelacija između aktivnosti SOD i koncentracije HPZ (Slika 2B), odnosno koncentracije TBARS (Slika 2C). Smanjena aktivnost SOD (Slika 2A) praćena je povećanim stvaranjem O_2^- (Slika 1C), što je registrovano u regionu strijatuma 24 h nakon *i.p.* davanja HPZ, u odnosu na kontrolnu grupu. Aktivnost enzima SOD, koji je uključen u dizmutaciju O_2^- , nije dovoljna za njegovu eliminaciju usled hiperprodukcije O_2^- , što dovodi do nastanka oksidativnog stresa. Međutim, za razliku od korteksa i strijatuma, u hipokampusu životinja je 24 h nakon davanja HPZ izmerena snižena aktivnost ukupne SOD (Slika 2A) i smanjeno stvaranje O_2^- (Slika 1C), u odnosu na

kontrole, što znači da HPZ indukuje prekomernu stimulaciju NMDA receptora i stvara uslove za proces ekscitotoksičnosti, akumulaciju slobodnog Ca^{2+} , aktivaciju NOS i nastanak NO. Dalje, snižena vrednost O_2^- mogla bi biti posledica njegovog povećanog trošenja u sintezi ONOO^- . Snižena aktivnost SOD verovatno je posledica smanjene količine supstrata, odnosno O_2^- . Smanjena aktivnost SOD može da bude posledica nitrozilacije delova molekula SOD, što je registrovano posebno u mitohondrijama neurona u kojima je operativna nNOS (48).

Guo i saradnici (49) pokazali su da za razliku od citosolne konstitutivne CuZnSOD, mitohondrijalna MnSOD predstavlja inducibilni enzim, koji zavisi od nivoa stvaranja RVK i omogućava prilagođavanje ćelija mozga različitim koncentracijama reaktivnih vrsta, nastalih u oksidativnom metabolizmu. Rezultat smanjenog stvaranja O_2^- kao kosupstrata (Slika 1C), jeste i registrovana smanjena aktivnost antioksidativnog enzima SOD (Slika 2A) u hipokampusu pacova posle davanja AGM.

Uloga glutationa u zaštiti ćelija od toksičnih dejstava SR i drugih komponenata sa elektrofilnim svojstvima ogleda se u njegovom antioksidativnom dejstvu, jer neutrališe RVK unutar ćelije direktno ili preko ciklusa GPx/glutation (50, 51). Povećanje nivoa ukupnog glutationa u kori prednjeg mozga 24 h posle trovanja HPZ je, uvezši u obzir njegovo antioksidativno dejstvo, rezultat aktivacije protektivnih mehanizama moždanog tkiva u ovim uslovima (Slika 3A). Međutim, u regionu strijatumu i hipokampa nije registrovana promena koncentracije ukupnog glutationa (Slika 3A), što ukazuje na sniženje GSH/GSSG odnosa, odnosno na insuficijentnu regeneraciju redukovane forme GSH, uslovljenu prevagom oksidativnih mehanizama.

Familija enzima GPx je široko rasprostranjena u animalnim tkivima i specifična za glutation kao donor vodonikovih atoma. Enzim GPx ima važnu ulogu kao antioksidativni enzim u supresiji LPO u tkivima, što je ovim radom i potvrđeno, jer je u korteksu životinja 24 h nakon davanja HPZ sa AGM registrovana povećana aktivnost GPx (Slika 3B), a smanjena koncentracija TBARS (Slika 1A) u odnosu na HPZ grupu. Akutna primena AGM posle HPZ vraća ove parametre na kontrolne vrednosti, što predstavlja jedan od mogućih mehanizama neuroprotektivnih efekata AGM nakon trovanja HPZ kod pacova. Naši rezultati korelativne analize pokazuju da sa porastom aktivnosti GPx opada koncentracija TBARS u strijatumu 24 h nakon davanja HPZ pacovima (Slika 3C). Hussain i saradnici (52) su ukazali na povezanost neurodegenerativnih promena u mozgu sa stvaranjem RVK u toku ćelijskog metabolizma.

Vraćanje glutationa u redukovaniu formu omogućeno je delovanjem enzima GR, čija aktivnost je smanjena 24 h nakon akutnog davanja HPZ u svim ispitivanim selektivno osetljivim strukturama mozga u odnosu na kontrolne grupe (Slika 4A). Poznato je da GR učestvuje u detoksifikaciji ksenobiotika, SR i peroksiда preko uklanjanja toksičnih agenasa sa glutationom, što na kraju štiti ćelije i organe od

oštećenja uzrokovanih različitim toksinima. Davanje AGM sa HPZ eksperimentalnim životinjama sprečava biološka oksidativna oštećenja, jer je u svim strukturama mozga pacova kombinovano davanje AGM sa HPZ dovelo do povećanja aktivnosti GR koje može biti posledica uklonjenih SR i smanjenog oksidativnog stresa (Slika 4A).

Jako je teško predvideti odgovor antioksidanata na hemijski stres, jer različiti faktori utiču na aktivnost antioksidativnih enzima (53). Enzim CAT je primarno lokalizovan u peroksizomima i odgovoran je za redukciju H_2O_2 stvorenog u metabolizmu masnih kiselina dugog lanca u peroksizomima. Rezultati Li i saradnika pokazuju da su promene aktivnosti CAT nakon delovanja HPZ dominantne i da se javljaju u opsegu terapijskog delovanja HPZ (54). Smanjena aktivnost CAT (Slika 4B) je dobar pokazatelj veličine oksidativnog stresa koji se javlja nakon delovanja HPZ u svim moždanim strukturama, a praćena je i smanjenjem aktivnosti SOD (Slika 2A), u odnosu na kontrolu.

U slučaju oštećenja CNS, glija ćelije proliferišu u područje lezije i uklanjaju debris, tako da u procesu glioze svojim produžecima popunjavaju nastali defekt u nervnom tkivu (44). U astrocitima se nalazi GFAP protein, koji je korišćen u našim imunohistohemijskim izučavanjima kao specifičan marker njihove identifikacije. S obzirom da reaktivne glija ćelije imaju ulogu u patološkim mehanizmima posredovanim antipsihoticima i da pokreću oksidativno oštećenje neurona, kritični korak postiže se kada patološka aktivacija glije nije ograničena samo na mikrogliju, već uključuje i astrocite (55). Astrociti vrše ekspresiju velike količine konstitutivnih NOS i stvaraju NO i O_2^- radikale, koji dalje oštećuju oligodendrocite i aksone, tako da je u našem istraživanju akutna primena HPZ nakon 24 h dovela do povećane imunoreaktivnosti glija ćelija (Slika 5) u mozgu pacova, u smislu povećanja broja GFAP pozitivnih ćelija.

Trovanje HPZ uzrokuje oštećenje jetre, nervnog sistema i reproduktivnih organa (4, 39). Takođe su poznati toksični efekti HPZ na kardiovaskularni sistem kao posledica blokiranja holinergičkih i α adrenergičkih receptora (56). Sa druge strane, terapijski potencijal AGM kao suplementa potvrđen je kod odraslih pacova na bihevioralnom (poboljšava prostorno učenje u vodenom laverintu) i neurohemijском nivou (smanjuje aktivnost azot oksid sintaze) (10). Iako je poznat više od 100 godina, zbog mnogo kontroverzi, biosinteza AGM je kod ljudi nedovoljno poznata (12), uključujući i njegov uticaj na toksikokinetiku HPZ. Naši preliminarni rezultati na osnovu primenjene samo po jedne doze HPZ i AGM na ovom eksperimentalnom modelu ukazuju na potencijalno protektivno dejstvo AGM, koji pokazuje sposobnost da koriguje promene pokazateљa oksidativnog stresa izazvane HPZ i predstavljaju dokaz njegovog potencijalnog značaja u kombinovanom terapijskom pristupu u tretmanu toksičnih efekata ovog antipsihotika.

Zahvalnica: Ovaj rad je podržan sredstvima od strane Vojnomedicinske akademije, projekat br. МФВМА/6/15-17 i od strane Ministarstva obrazovanja, nauke i tehnološkog razvoja Republike Srbije, projekat br. ИИИ41018.

Literatura

1. Kato TA, Monji A, Mizoguchi Y, Hashioka S, Horikawa H, Seki Y, Kasai M, Utsumi H, Kanba S. Anti-Inflammatory properties of antipsychotics via microglia modulations: are antipsychotics a 'fire extinguisher' in the brain of schizophrenia? *Mini Rev Med Chem.* 2011;11(7):565-74.
2. Ruffolo RR, Patil PN. Kinetics of blockade of different receptors by chlorpromazine in rabbit stomach strips. *Eur J Pharmacol.* 1978; 48(2):151-7.
3. Zhang G, Terry AV Jr, Bartlett MG. Sensitive liquid chromatography/tandem mass spectrometry method for the determination of the lipophilic antipsychotic drug chlorpromazine in rat plasma and brain tissue. *J Chromatogr B Analyt Technol Biomed Life Sci.* 2007; 854(1-2):68-76.
4. Yang Q, Yang F, Tang X, Ding L, Xu Y, Xiong Y, Wang Z, Yang L. Chlorpromazine-induced perturbations of bile acids and free fatty acids in cholestatic liver injury prevented by the Chinese herbal compound Yin-Chen-Hao-Tang. *BMC Complement Altern Med.* 2015; 15:122.
5. Huang QY, Li XF, Liu SP. E-cadherin and caveolin-1 alterations in the heart of rats having undergone chlorpromazine-induced toxicity. *Mol Med Rep.* 2012; 5(3):705-9.
6. Bronstein AC, Spyker DA, Cantilena LR, Green JL, Rumack BH, Dart RC. 2010 Annual Report of the American Association of Poison Control Centers National Poison Data System (NPDS): 28th Annual report. *Clin Toxicol.* 2011;49:910-41.
7. Pillai A, Parikh V, Terry AV Jr, Mahadik SP. Long-term antipsychotic treatments and crossover studies in rats: differential effects of typical and atypical agents on the expression of antioxidant enzymes and membrane lipid peroxidation in rat brain. *J Psychiatr Res.* 2007;41(5):372-86.
8. Mink JW. Basal ganglia. In: Zigmond MJ, Bloom TE, Landis SC, Roberts JL, Squire LR, editors. *Fundamental neuroscience.* San Diego: Academic Press;1999. 951-72 p.
9. Piletz JE, Aricioglu F, Cheng JT, Fairbanks CA, Gilad VH, Haenisch B, Halaris A, Hong S, Lee JE, Li J, Liu P, Molderings GJ, Rodrigues AL, Satriano J, Seong GJ, Wilcox G, Wu N, Gilad GM. Agmatine: clinical applications after 100 years in translation. *Drug Discov Today* 2013;18(17-18):880-93.
10. Rushaidhi M, Zhang H, Liu P. Effects of prolonged agmatine treatment in aged male Sprague-Dawley rats. *Neuroscience* 2013;234:116-24.

11. Uzbay T, Goktalay G, Kayir H, Eker SS, Sarandol A, Oral S, Buyukuyosal L, Ulusoy G, Kirli S. Increased plasma agmatine levels in patients with schizophrenia. *J Psychiatr Res.* 2013;47(8):1054-60.
12. Halaris A, Zhu H, Feng Y, Piletz JE. Plasma agmatine and platelet imidazoline receptors in depression. *Ann N Y Acad Sci.* 1999;881:445-51.
13. Feng Y, Piletz JE, Leblanc MH. Agmatine suppresses nitric oxide production and attenuates hypoxic-ischemic brain injury in neonatal rats. *Pediatr Res.* 2002;52(4):606-11.
14. Olmos G, DeGregorio-Rocasolano N, Paz Regalado M, Gasull T, Assumpció Boronat M, Trullas R, Villarroel A, Lerma J, García-Sevilla JA. Protection by imidazol(ine) drugs and agmatine of glutamate-induced neurotoxicity in cultured cerebellar granule cells through blockade of NMDA receptor. *Br J Pharmacol.* 1999;127(6):1317-26.
15. Dubinina EE, Schedrina LV, Neznanov NG, Zalutskaya NM, Zakharchenko DV. Oxidative stress and its effect on cells functional activity of alzheimer's disease. *Biomed Khim.* 2015;61(1):57-69.
16. Scandalios JG. Oxidative stress: molecular perception and transduction of signals triggering antioxidant gene defences. *Brazilian J Med Biolog Res.* 2005;38:995-1014.
17. Kruidenier L, Verspaget HW. Review article: oxidative stress as a pathogenic factor in inflammatory bowel disease - radicals or ridiculous. *Aliment Pharmacol Ther.* 2002;16:1997-2015.
18. Ayala A, Muñoz MF, Argüell es S. Lipid peroxidation: production, metabolism, and signaling mechanisms of malondialdehyde and 4-hydroxy-2-nonenal. *Oxid Med Cell Longev.* 2014;2014:360438.
19. Srivastava A, Rao LJ, Shivanandappa T. 14-aminotetradecanoic acid exhibits antioxidant activity and ameliorates xenobiotics-induced cytotoxicity. *Mol Cell Biochem.* 2012;364(1-2):1-9.
20. Buonocore G, Perrone S, Tataranno ML. Oxygen toxicity: chemistry and biology of reactive oxygen species. *Semin Fetal Neonatal Med.* 2010;15:186-90.
21. Naidu PS, Singh A, Kulkarni SK. Carvedilol attenuates neuroleptic-induced orofacial dyskinesia: possible antioxidant mechanisms. *Br J Pharmacol.* 2002;136:193-200.
22. Apte MV, Haber PS, Applegate TL, Norton ID, McCaughan GW, Korsten MA, Pirola RC, Wilson JS. Periacinar stellate shaped cells in rat pancreas: Identification, isolation, and culture. *Gut* 1998;43(1):128-33.
23. Patel MX, Arista IA, Taylor M, Barnes TR. How to compare doses of different antipsychotics: a systematic review of methods. *Schizophr Res.* 2013;149(1-3):141-8.
24. Heitzman RJ. Veterinary drug residues, Commission of the European Communities, 2th ed., 1994.
25. Gurd JW, Jones LR, Mahler HR, Moore WJ. Isolation and partial characterization of rat brain synaptic membrane. *J Neurochem.* 1974;22:281-90.
26. Lowry OH, Rosebrough NJ, Farr AL, Randall RJ. Protein measurement with the Folin phenol reagent. *J Biol Chem.* 1951;193(1):265-75.
27. Girotti M, Khan N, Mc Lellan B. Early measurement of systemic lipid peroxidation products in the plasma of major blunt trauma patients. *J Trauma* 1991;31:32-5.

28. Navarro-Gonzalez JA, Garcia-Benayas C, Arenas J. Semiautomated measurement of nitrate in biological fluids. *Clin Chem*. 1998;44:679-81.
29. Auclair C, Voisin E. Nitroblue tetrazolium reduction. In: Greenwald RA, editor. *Handbook of Methods for Oxygen Radical Research*, Florida: CRC Press; 1985. 123-3 p.
30. Sun M, Zigman S. An improved spectrophotometric assay for superoxide dismutase based on epinephrine autooxidation. *Anal Biochem*. 1978;90:81-9.
31. Anderson ME. Tissue glutathione. The DTNB-GSSG reductase recycling assay for total glutathione (GSH+1/2GSSG). In: Greenwald RA, editor. *CRC Press, Inc*; 1986. 317-23 p.
32. Randox Laboratories, Ltd. Radicales Libres, United Kingdom, Crumlin, 1996;1-16.
33. Freifelder D. *Physical Biochemistry. Application to Biochemistry and Molecular Biology*, San Francisco: Freeman WH and Co.; 1976.
34. Góth L. A simple method for determination of serum catalase activity and revision of reference range. *Clin Chim Acta* 1991;196(2-3):143-51.
35. Dalmau I, Vela JM, González B, Finsen B, Castellano B. Dynamics of microglia in the developing rat brain. *J Comp Neurol*. 2003;458(2):144-57.
36. Stevanovic I, Ninkovic M, Stojanovic I, Ljubisavljevic S, Stojnev S, Bokonjic D. Beneficial effect of agmatine in the acute phase of experimental autoimmune encephalomyelitis in iNOS-/- knockout mice. *Chem Biol Interact*. 2013;206:309-18.
37. Reineke JJ, Cho DY, Dingle YT, Morello AP 3rd, Jacob J, Thanos CG, Mathiowitz E. Unique insights into the intestinal absorption, transit, and subsequent biodistribution of polymer-derived microspheres. *Proc Natl Acad Sci USA* 2013;110(34):13803-8.
38. Hatanaka T, Sato S, Endoh M, Katayama K, Kakemi M, Koizumi T. Effect of chlorpromazine on the pharmacokinetics and pharmacodynamics of pentobarbital in rats. *J Pharmacobiodyn*. 1988;11(1):18-30.
39. Sulaiman A, Al-Shawi N, Jwaied A, Mahmood D, Hussain S. Protective effect of melatonin against chlorpromazine-induced liver disease in rats. *Saudi Med J*. 2006;27(10):1477-82.
40. Kelleher MO, McMahon M, Eggleston IM, Dixon MJ, Taguchi K, Yamamoto M, Hayes JD. 1-Cyano-2,3-epithiopropane is a novel plant-derived chemopreventive agent which induces cytoprotective genes that afford resistance against the genotoxic alpha, beta-unsaturated aldehyde acrolein. *Carcinogenesis* 2009;30(10):1754-62.
41. Kabuto H, Tada M, Kohno M. Eugenol [2-methoxy-4-(2-propenyl)phenol] prevents 6-hydroxydopamine-induced dopamine depression and lipid peroxidation inductivity in mouse striatum. *Biol Pharm Bull*. 2007;30(3):423-7.
42. Dastan A, Kocer I, Erdogan F, Ates O, Kiziltunc A. Agmatine as retinal protection from ischemia-reperfusion injury in guinea pigs. *Jpn J Ophthalmol*. 2009;53(3):219-24.
43. Neitz A, Mergia E, Neubacher U, Koesling D, Mittmann T. NO regulates the strength of synaptic inputs onto hippocampal CA1 neurons via NO-GC1/cGMP signalling. *Pflugers Arch*. 2014;467(6):1383-94.

44. Schubert P, Ogata T, Marchini C, Ferroni S. Glia-related pathomechanisms in AD: a therapeutic target? *Mech Ageing Dev.* 2001;123(1):47-57.
45. Blitzblau R, Gupta S, Djali S, Robinson MB, Rosenberg PA. The glutamate transport inhibitor L-trans-pyrrolidine-2,4-dicarboxylate indirectly evokes NMDA receptor mediated neurotoxicity in rat cortical cultures. *Eur J Neurosci.* 1996;8(9):1840-52.
46. Tong XK, Hamel E. Basal forebrain nitric oxide synthase (NOS)-containing neurons project to microvessels and NOS neurons in the rat neocortex: cellular basis for cortical blood flow regulation. *Eur J Neurosci.* 2000;12(8):2769-80.
47. Mattson MP, Pedersen WA. Effects of amyloid precursor protein derivatives and oxidative stress on basal forebrain cholinergic systems in AD. *Int J Dev Neurosci.* 1998;16(7-8):737-53.
48. Johnson J, Manzo W, Gardner E, Menon J. Reactive oxygen species and anti-oxidant defenses in tail of tadpoles, *Xenopus laevis*. *Comp Biochem Physiol C Toxicol Pharmacol.* 2013;158(2):101-8.
49. Guo Q, Fu W, Holtsberg FW, Steiner SM, Mattson MP. Superoxide mediates the cell-death-enhancing action of presenilin-1 mutations. *J Neurosci Res.* 1999;56(5):457-70.
50. Lopert P, Patel M. Brain mitochondria from DJ-1 knockout mice show increased respiration-dependent hydrogen peroxide consumption. *Redox Biol.* 2014;2:667-72.
51. Dejanovic B, Stevanovic I, Ninkovic M, Stojanovic I, Vukovic-Dejanovic V. Protective effect of agmatine in acute chlorpromazine hepatotoxicity in rats. *Acta Vet Brno* 2014;83(4):305-12.
52. Hussain S, Slikker W Jr, Ali SF. Age-related changes in antioxidant enzymes, superoxide dismutase, catalase, glutathione peroxidase and glutathione in different regions of mouse brain. *Int J Dev Neurosci.* 1995;13(8):811-7.
53. Pathak NN, Balaganur V, Lingaraju MC, Kant V, Latief N, More AS, Kumar D, Kumar D, Tandan SK. Atorvastatin attenuates neuropathic pain in rat neuropathy model by down-regulating oxidative damage at peripheral, spinal and supraspinal levels. *Neurochem Int.* 2014;68:1-9.
54. Li T, Zhou Q, Zhang N, Luo Y. Toxic effects of chlorpromazine on Carassius auratus and its oxidative stress. *J Environ Sci Health B* 2008;43(8):638-43.
55. Müller N, Ackenheil M. Psychoneuroimmunology and the cytokine action in the CNS: implications for psychiatric disorders. *Prog Neuropsychopharmacol Biol Psychiatry* 1998;22(1):1-33.
56. Newcomer JW. Antipsychotic medications: metabolic and cardiovascular risk. *J Clin Psychiatry.* 2007;68 Suppl 4:8-13.

Agmatine prevents acute chlorpromazine-induced neurotoxicity in rats

**Bratislav Dejanovic^{1*}, Milica Ninkovic², Ivana Stojanovic³,
Irena Lavrnja⁴, Tatjana Radicevic⁵, Ivana Stevanovic²**

¹Military Medical Center „Karaburma”, Belgrade, Serbia;

²Institute for Medical Research, Military Medical Academy, Belgrade, Serbia;

³University of Nis, Faculty of Medicine, Institute for Biochemistry, Nis, Serbia;

⁴Institute for Biological Research „Sinisa Stankovic”, University of Belgrade, Serbia;

⁵Institute of Meat Hygiene and Technology, Belgrade, Serbia

Summary

The present study was directed to potentially beneficial effects of agmatine (AGM) on oxidative/nitrosative stress development in selective vulnerable brain regions during chlorpromazine (HPZ) treatment in rats. All tested compounds were administered intraperitoneally (i.p.) in one single dose. The animals were divided into control (K, 0.9 % saline solution), HPZ (HPZ, 38.7 mg/kg b.w.), HPZ+AGM (AGM, 75 mg/kg b.w. immediately after HPZ, 38.7 mg/kg b.w. i.p.) and AGM (AGM, 75 mg/kg b.w.) groups. Rats were sacrificed by decapitation 24 hours after the treatment. Analysis of data showed that HPZ+AGM injection significantly decreased drug concentration compared with HPZ-animals ($p<0.05$). HPZ application increased lipid peroxidation ($p<0.001$ in cortex, striatum and hippocampus), nitrite and nitrate concentration ($p<0.001$ in all three brain regions) and superoxide anion production ($p<0.05$ in all three brain structures), while completely damaged enzymatic antioxidative defense system (superoxide dismutase in both cortex and striatum $p<0.05$ and hippocampus $p<0.001$; glutathione reductase in both cortex and striatum $p<0.001$ and hippocampus $p<0.05$; catalase in cortex $p<0.001$ and both striatum and hippocampus $p<0.05$). However, treatment with AGM significantly attenuated the oxidative stress parameters compared to HPZ-group (lipid peroxidation in cortex $p<0.001$, striatum $p<0.01$ and hippocampus $p<0.05$; nitrite and nitrate concentration in all three brain structures $p<0.001$) and restores antioxidant capacity to control values in all examined brain structures. Immunohistochemical staining of GFAP molecules in rats showed an increase in the number of positive cells 24 h after acute HPZ-administration. All these results indicate that AGM may be effective in the protection of HPZ-induced brain injury in rats.

Key words: Agmatine, Antioxidant defense, Brain, Chlorpromazine, Oxidative stress

Basiscreme DAC – karakteristike i mogućnost primene u izradi lekova u apoteci

Martina Martinović, Nina Stanković, Gordana Vuleta*

Univerzitet u Beogradu - Farmaceutski fakultet, Katedra za farmaceutsku tehnologiju i kozmetologiju, Vojvode Stepe 450, 11000 Beograd, Srbija

*Autor za korespondenciju: Prof. dr Gordana Vuleta; gocka@pharmacy.bg.ac.rs

Kratak sadržaj

Uprkos propisivanju industrijski proizvedenih dermatoloških preparata, uspešna lokalna terapija određenih kožnih oboljenja i dalje zavisi od znanja i veština farmaceuta prilikom izrade magistralnih i galenskih lekova. Dermatolozi su, tradicionalno, lekari koji najčešće propisuju ove lekove na recept, zahtevajući od farmaceuta da pripremi lek odgovarajućeg sastava, primenom odgovarajućih pojedinačnih pomoćnih supstanci ili adekvatne podloge, koje često nisu i ne moraju biti propisane u receptu.

Jedan od oficinalnih kremova u DAC/NRF 2013, koji se može koristiti kao podloga u izradi magistralnih lekova/preparata jeste Basiscreme DAC, čiji je sinonim Ambifilni krem. Basiscreme DAC se može koristiti za izradu hidrofilnih/lipofilnih kremova, emulzija za kožu i masti koje emulgaju vodu, i pogodan je u subakutnim i hroničnim fazama bolesti kože, kao i za izradu kozmetičkih proizvoda.

Cilj rada je bio da se bliže prikažu podaci za ovaj oficinalni preparat, iz monografije DAC/NRF, koji se odnose na sastav, postupak izrade, osobine, ispitivanja i upotrebu Basiscreme DAC za izradu magistralnih preparata u apotekama u Srbiji, ali i brojnih farmaceutskih preparata sa različitim lekovitim supstancama (dermatosteroidi, dekspantenol, izosorbid dinitrat itd), za koje se potrebni i korisni podaci mogu naći u DAC/NRF 2013.

Ključne reči: Basiscreme DAC, ambifilni krem, podloga, magistralni lek

Uvod

Klinička efikasnost dermatoloških preparata i podnošljivost od strane pacijenta umnogome zavise od izbora podloge ili vehikuluma kao nosača lekovite supstance. Terapijska efikasnost leka za lokalnu terapiju bolesti kože, veoma zavisi od fizičko-hemijskih svojstava podloge, zbog čega je formulacija podloge polučvrstih farmaceutskih preparata za kožu, podjednako važna kao i sama lekovita supstanca (1). Poznato je da promene u sastavu podloge u preparatima različitih proizvođača sa istom lekovitom supstancom, u istoj koncentraciji, uslovjavaju razlike u ishodima lokalne dermatološke terapije. Rezultati brojnih istraživanja pokazuju da izbor pomoćnih supstanci utiče na sudbinu lekovite supstance u koži (2-4). Ovo predstavlja svojevrstan problem, budući da nije moguće formirati sistem za međusobno poređenje dermatoloških preparata, prema jačini dejstva. Zahtevi koje podloga treba da ispunjava su brojni: fiziološka kompatibilnost, hemijska, fizička i mikrobiološka stabilnost, hemijska indiferentnost, mogućnost inkorporiranja vode i tečnih supstanci, kompatibilnost sa velikim brojem lekovitih supstanci, brzo i lako oslobođanje lekovite supstance sa ciljem postizanja optimalnog terapijskog efekta, odgovarajuća reološka svojstva koja omogućavaju dobru razmazivost, odgovarajuća temperatura topljenja (oko 40 °C), s obzirom na temperaturu površine kože (oko 32 °C), i adekvatna kozmetička svojstva, koja će lek učiniti prihvatljivim za primenu. Međutim, podloga nije samo pasivni nosač leka, već i sama može imati izvesno dejstvo na obolelu kožu (npr. emolijentno) i zaštitnu/protektivnu ulogu na zdravoj koži, te je važno poznavati i njena fizičko-hemijska svojstva (5,6).

Savremeni zahtevi za podlogu u polučvrstim preparatima za kožu

Prema rečniku izraza u Ph. Eur. 8.0, podloga (*engl. base*) se definiše kao nosač, sastavljen od jedne ili više pomoćnih supstanci, za lekovitu/e supstancu/e u polučvrstim i čvrstim preparatima (7). Adekvatnom formulacijom farmaceutskog oblika, podloga se prilagođava inkorporiranoj lekovitoj supstanci i mestu primene preparata i istovremeno se optimizuju njegova kozmetička svojstva. Samim tim, izbor odgovarajuće podloge predstavlja izazov, kako u razvoju polučvrstih preparata za kožu, tako i u izradi magistralnih lekova za lokalnu terapiju u dermatologiji, kada izbor sastojaka podloge najčešće vrši sam farmaceut. Mada je na tržištu dostupan veliki broj industrijski proizvedenih preparata za dermalnu primenu, koji se dominantno propisuju, uspešna terapija određenih oboljenja kože i dalje zavisi od znanja i veština farmaceuta prilikom izrade magistralnih lekova. Izrada magistralnih lekova je od suštinskog značaja za individualizaciju/personalizaciju terapije, posebno kod specifičnih grupa pacijenata, kao što su pedijatrijska i gerijatrijska populacija. Magistralni preparati se izrađuju i u slučajevima kada je pacijent preosetljiv na neku/e od pomoćnih supstanci koja/e ulazi/e u sastav registrovanih lekova. Osim toga, izrada magistralnih i galenskih preparata

pruža mogućnost rešavanja problema kratkog roka upotrebe kod izrazito nestabilnih lekova, a značajna je i u slučaju obustavljanja proizvodnje registrovanog leka (*engl. discontinued drugs*) (8). Stav farmaceutske struke o izradi magistralnih preparata definisan je monografijom pod nazivom Farmaceutski preparati (04/2013:2619) u sedmom dodatku sedmog izdanja Evropske farmakopeje (Ph. Eur. 7.7) (9), a o značaju izrade ovih lekova u apotekama, govori i usvajanje Rezolucije Evropske komisije (*engl. Resolution CM/ResAP(2011)1 on quality and safety assurance requirements for medicinal products prepared in pharmacies for the special needs of patients*) o obezbeđenju zahteva za kvalitet i bezbednost ovih lekova (10).

Dermatolozi su, tradicionalno, lekari koji najčešće propisuju magistralne preparate na recept, zahtevajući od farmaceuta da pripremi lek propisanog sastava, primenom odgovarajuće podloge/baze (11). Sa ciljem da se izabere adekvatna podloga u izradi magistralnih lekova, formulisane su takozvane „prazne” podloge koje se proizvode u farmaceutskoj industriji; takođe, podloge u obliku kremova, masti ili gela, izrađuju se i u galenskim laboratorijama apoteka, prema oficinalnim propisima (farmakopeje, magistralne formule ili drugi dodaci farmakopejama). Takve podloge, najčešće u obliku kremova, koriste se za izradu magistralnih preparata (u obliku kremova ili emulzija za kožu), ili se koriste za izradu određenih kozmetičkih proizvoda (5). Ove podloge se mogu koristiti i za razblaživanje industrijski proizvedenih preparata, naročito sa dermatosteroidima; u nedostatku odgovarajuće jačine/koncentracije izabranog kortikosteroida, lekari (često) pribegavaju praksi razblaživanja odgovarajućih registrovanih lekova (12).

Jedan od oficinalnih kremova, koji se može široko koristiti u izradi magistralnih lekova/preparata jeste Basiscreme DAC (*lat. Cremor basalis DAC*), koji je oficinalan prema DAC/NRF 2013 (13). Basiscreme DAC je ambifilni krem/podloga i može se koristiti za izradu hidrofilnih/lipofilnih kremova, emulzija za kožu i masti koje emulguju vodu, naročito u preparatima koji se koriste u subakutnim i hroničnim fazama bolesti kože (14). Ima sinonim Ambifilni krem (13).

Ambifilni/amfifilni kremovi predstavljaju prelazan oblik između hidrofilnih i lipofilnih kremova. Specifičan sastav emulgatora koji čine veliki udeo same podloge, omogućava obrazovanje mešovitog tipa emulzija sa uravnoteženim hidrofilno-lipofilnim osobinama. Zahvaljujući tome, ovi kremovi mogu da emulguju najmanje 25% vode, odnosno vodenih rastvora lekovitih supstanci, i najmanje 25% tečnog parafina. S obzirom da poseduju visok kapacitet emulgovanja kako vodenih, tako i uljanih rastvora hidrofilnih, odnosno hidrofobnih aktivnih supstanci, iz ambifilnih kremova se mogu izraditi hidrofilni kremovi (tip U/V), odnosno lipofilni kremovi (tip V/U) i emulzije za kožu tipa U/V. Dodatkom tečnosti koja prevazilazi kapacitet spoljašnje gel kristalne faze krema da zadrži polučvrstu konzistenciju, usled emulgovanja tečnosti, dolazi do spontanog prelaza krema u (tečnu) emulziju,

odgovarajuće stabilnosti (5,15). Pored navedenih prednosti amfibilnih kremova, koje značajno pojednostavljaju izbor podloge i samu izradu magistralnih preparata, trebalo bi naglasiti da njihova primena podrazumeva i jednostavniji postupak izrade, budući da se iz ovih podloga, kremovi i emulzije za kožu izrađuju na sobnoj temperaturi (tzv. izrada „na hladno“) (5).

Cilj rada

Cilj rada je bio da se bliže prikažu sastav, postupak izrade, osobine, ispitivanja i mogućnost upotrebe Basiscreme DAC u farmaciji, kao i da se, shodno podacima u stručnoj literaturi, ispitaju dodatni fizičko-hemijski i farmaceutsko-tehnološki parametri ovog krema koji se može koristiti za izradu magistralnih preparata u apotekama u Srbiji, ali i brojnih farmaceutskih preparata sa različitim lekovitim supstancama (dermatosteroidi, dekspantenol, izosorbid dinitrat, itd), za koje se potrebni i korisni podaci mogu naći u DAC/NRF 2013.

U nastavku rada navode se podaci iz monografije Basiscreme DAC preuzeti iz DAC/NRF (13).

Basiscreme DAC

Cremor basalis, DAC

Definicija

Basiscreme DAC je ambifilni krem i jedna od osnovnih polaznih materija (podloga) u izradi polučvrstih farmaceutskih preparata i kozmetičkih proizvoda.

Sinonim: Ambifilni krem

Sastav

100 g preparata sadrži:

Glicerilmonostearat 60.....	4,0g
Cetilalkohol.....	6,0g
Trigliceridi, srednje dužine lanca.....	7,5g
Beli vazelin.....	25,5g
Makrogol-20-glicerilmonostearat.....	7,0g
Propilenglikol.....	10,0g
Prečišćena voda.....	40,0g

Izrada

Glicerilmonostearat 60, cetilalkohol, triglyceridi srednje dužine lanca i beli vazelin se zagrevaju na vodenom kupatilu do temperature od oko 60 °C i postepeno im se, uz kontinuirano mešanje, dodaje smeša od makrogol-20-glicerilmonostearata, propilenglikola i prečišćene vode, koja je zagrejana na otprilike istu (2 – 5 °C višu) temperaturu. Mešanje se nastavlja do hlađenja na sobnu temperaturu, uz nadoknadu isparele vode. Nakon toga, brzinu mešanja treba prilagoditi tako da se obezbedi dobra homogenost preparata, uz minimalno uklapanje vazduha u homogenizatoru.

U izradi ovog krema mogu se primeniti i druge metode, pod uslovom da daju proizvod istog kvaliteta kao i opisani postupak izrade.

Osobine

Izgled: beli, meki, ambifilni krem

Identifikacija

- A. Dokazivanje se vrši metodom tankoslojne (TLC) hromatografije (DAC - uzorak 11).

Mobilna faza: smeša jednakih zapremina 2-propanola R i petroletra R.

Ispitivan rastvor: 0,4 g ispitivanog uzorka pomeša se sa 5 ml mobilne faze.

Referentni rastvor: 25 mg cetilalkohola R, 30 mg triglycerida srednje dužine lanca (Ph. Eur.) i 0,1 g belog vazelina R pomešati sa 5 ml mobilne faze.

Uslovi ispitivanja

Stacionarna faza: TLC – ploča sa silikagelom R.

Injekciona zapremina: 5 µl

Eluent: pomešati 90 zapreminske jedinice heptana R, 9 zapreminske jedinice etra R i 1 zapreminsku jedinicu sirčetne kiseline, 99% R.

Razvijanje: 2 puta uz umereno sušenje

Dužina hromatografskog puta: 6 cm.

Detekcija i evaluacija

Hromatografska ploča se suši na vazduhu, prska rastvorom amonijumanilinonaftalinsulfonata RN (1g • L), zatim kratko suši na 80 °C i posmatra pod UV lampom na 365 nm.

Hromatogram referentnog rastvora u donjoj trećini hromatografske ploče pokazuje mrlje cetilalkohola i triglicerida srednje dužine lanca sa rastućim Rf vrednostima, redom. U gornjoj trećini ploče vidljiva je kratka intenzivna mrlja poreklom od belog vazelina ispod linije eluenta. Hromatogram ispitivanog rastvora daje mrlje uporedivog intenziteta sa odgovarajućim mrljama koje potiču od referentnog rastvora. Posebno, u donjoj trećini hromatografske ploče, mogu se javiti mrlje slabijeg intenziteta.

- B. 50 mg uzorka se u epruveti pomeša sa 0,1 ml vodenog rastvora metilenskog plavog R (1,5 g · L), 2 ml razblažene sumporne kiseline R i 2 ml dihlormetana R. Nakon mučkanja, gornja faza je intenzivnije plavo obojena od donje faze.
- C. 0,5 g uzorka se delimično pomeša sa 50 ml vode R. Dobija se mlečna, ravnomerne zamućena smeša. 0,05 ml ove smeše se pažljivo, uz hlađenje u ledeno hladnoj vodi, pomeša sa 5 ml ohlađenog rastvora dobijenog mešanjem 1 ml vode R i 9 ml razblažene sumporne kiseline R. Smeša se zagreva 10 minuta na vodenom kupatilu do temperature od 70 °C, potom ohladi i tretira sa 0,2 ml vodenog rastvora ninhidrina R (30 g · L) i natrijum disulfita R (25 g · L). Razvija se ljubičasta boja koja maksimalni intenzitet dostiže nakon 1h. Uporedo se radi slepa proba čija roze boja postiže maksimalni intenzitet posle 1h.

Ispitivanje nečistoća

1. **Saponifikacioni broj (2.5.6):** 30 - 42, određeno na 8,00 g uzorka.
2. **Neosapunjive materije (2.5.7):** 25,0 – 35,0 %, određeno na 1,00 g uzorka.
3. **Sadržaj vode (2.5.12):** 38,0 – 42,0 %, određeno na 50,0 mg uzorka Karl – Fišerovom metodom. Uzorak se rastvor u smeši 20 ml anhidrovanog metanola R i 10 ml dihlormetana R.

Čuvanje

Čuvati dobro zatvoreno i zaštićeno od svetlosti.

Obeležavanje

Obeležavanje se vrši u skladu sa monografijom „Polučvrsti preparati za primenu na koži” u Ph. Eur.

Upotreba u farmaciji

Ambifilna podloga za kremove, emulzije za kožu i masti koje emulguju vodu, naročito u preparatima koji se koriste u subakutnim fazama bolesti kože.

Preparat je *mikrobiološki stabilan* zbog sadržaja propilenglikola u koncentraciji od 10%.

Rok upotrebe: 3 godine, zatvoreno u originalnoj ambalaži/pakovanju;
6 meseci nakon prvog otvaranja (DAC - dodatak I i NRF - poglavlje 14) (13).

U monografiji Basiscreme DAC se navodi da je sadržaj vode u intervalu od 38 do 42%, da se obeležavanje vrši u skladu sa zahtevom monografije „Polučvrsti preparati za primenu na koži“ (Ph. Eur. 7.0), što podrazumeva navođenje imena svih pomoćnih supstanci, kao i ostalih neophodnih podataka (16). Treba naglasiti da ovaj ambifilni krem, zatvoren u originalnom pakovanju, ima rok upotrebe 3 godine, a 6 meseci nakon prvog otvaranja.

U Tabelama za recepturu (Tabellen für die Rezeptur) koje su deo DAC/NRF 2013, navodi se *galenski/farmaceutsko-tehnološki profil oficinalne dermatološke podloge Basiscreme DAC* (14):

- sadržaj vode oko 40%
- pH 5 – 6
- stabilan je u opsegu pH 2 – 12
- usled visokog sadržaja masne faze, teže se spira sa vodom od ostalih hidrofilnih kremova
- meša se sa vodom i lipidima u određenom odnosu, zbog čega nosi sinonim „ambifilni krem“
- sadrži parafine (beli vazelin), ali ne sadrži lanolin, što je važno ako se koristi za izradu određenih kozmetičkih proizvoda ili farmaceutskih preparata (kremovi) koji ne bi trebalo da sadrže lanolin (npr. kada pacijent ispoljava alergijsku reakciju na lanolin)
- kompatibilan sa katjonskim supstancama
- inkompatibilan sa pojedinim jedinjenjima fenola
- primena: posebno kod subakutnih i hroničnih dermatozra

Basiscreme DAC se koristi kao podloga za veliki broj farmaceutskih preparata koji imaju monografije u NRF 2013. Spisak naziva farmaceutskih preparata, u obliku krema, u čiji sastav ulazi *Cremor basalis* DAC kao podloga, prikazan je u nastavku rada (13):

- *Dimetilsulfoksid krem 50% NRF 2.6,*
- *Diltiazem hidrohlorid hidrofilni krem 2% NRF 5.7,*
- *Izosorbid dinitrat rektalni hidrofilni krem 1% NRF 5.9,*

- *Gliceroltrinitrat rektalni hidrofilni krem 0,2% NRF 5.10,*
- *Dekspantenol hidrofilni krem 5% NRF 11.28,*
- *Dimetikon hidrofilni krem 10% NRF 11.34,*
- *Prednizolon acetat hidrofilni krem 0,25% i 0,5% NRF 11.35,*
- *Hidrokortizon hidrofilni krem 0,25% i 0,5% NRF 11.36,*
- *Betametazon valerat hidrofilni krem 0,025%, 0,05% i 0,1% NRF 11.37,*
- *Triamcinolon acetonid hidrofilni krem 0,025%, 0,05% i 0,1% NRF 11.38,*
- *Klobetazol propionat hidrofilni krem 0,05% NRF 11.76,*
- *Eritromicin hidrofilni krem 0,5% - 4 % NRF 11.77,*
- *Mikonazol nitrat hidrofilni krem 2 % NRF 11.79,*
- *Metoksalen hidrofilni krem 0,0006 % NRF 11.96,*
- *Tretinojn hidrofilni krem 0,025%, 0,05% i 0,1 % NRF 11.100,*
- *Hlorheksidin diglukonat hidrofilni krem 0,5% ili 1% NRF 11.116,*
- *Polidokanol hidrofilni krem 5% i 10% NRF 11.118,*
- *Kapsaicinoid hidrofilni krem 0,025%, 0,05% i 0,1% NRF 11.125,*
- *Triamcinolon acetonid 0,025%, 0,05% i 0,1% sa hlorheksidin diglukonatom 1% hidrofilni krem NRF 11.136 i*
- *Eritromicin 2% sa metronidazolom 1% hidrofilni krem NRF 11.138.*

Takođe, neki registrovani dermatološki lekovi u obliku krema kao podlogu sadrže Basiscreme DAC. Linola® Urea, krem, 120 mg/g (proizvođač: Dr. August Wolff GmbH & Co. KG, Arzneimittel) ima dozvolu za stavljanje u promet u Srbiji, kao lek koji se izdaje bez lekarskog recepta, a izrađena je sa podlogom Basiscreme DAC, u koju je inkorporirano 12 % uree (ureje). Preporučuje se za lečenje suve kože sa perutanjem, za neurodermatitis, staračku kožu, ihtiozu (ljuspasta koža) (17).

Materijali i metode

Za ispitivanja je korišćen Basiscreme DAC, izrađen u Galenskoj laboratoriji „Lipov lad“ Apoteke Beograd, prema oficinalnom propisu DAC/NRF 2013, pakovan u plastične kutije mase 900g (serije 100610115, datum izrade 28.1.2015), odnosno u plastične kutije od 1100g (serije 104060715, izrađene 23.7.2015, i serije 105241015, izrađene 7.10.2015. godine).

Ispitivanje Basiscreme DAC je obuhvatilo fizičko-hemijske parametre (organoleptičke osobine, pH, električnu provodljivost i reološke karakteristike), dok je od farmaceutsko-tehnoloških ispitivanja urađeno ispitivanje sposobnosti emulgovanja prečišćene vode i tečnog parafina (amfifilna svojstva). Kremovi i emulzije za kožu, izrađeni iz Basiscreme DAC, dodatkom od 100 - 1000 % prečišćene vode, skladišteni su

na temperaturi od $25^{\circ}\text{C} \pm 3^{\circ}\text{C}$, u periodu od mesec dana, u toku kojeg je njihova stabilnost procenjivana organoleptičkim posmatranjem izgleda, a ponašanje u stres uslovima ispitano testom centrifugiranja, 24h nakon izrade (5,13,14).

Određivanje pH

pH Basiscreme određivana je potenciometrijskom metodom. Elektroda pH-metra HI 9321 (Hanna Instruments Inc, SAD) je uronjena direktno u svaki ispitivani krem i očitana stabilna vrednost. Izvršena su tri merenja, a rezultat izražen kao njihova srednja vrednost. Određivanju pH prethodila je kalibracija aparata, standardnim puferskim rastvorima pH 4,0 i 7,0. Merenja su izvedena na temperaturi od $20^{\circ}\text{C} \pm 0,5^{\circ}\text{C}$.

Merenje električne provodljivosti

Merna elektroda konduktometra CDM 230 (Radiometer, Danska) je uronjena u ispitivani uzorak, a zatim je očitana stabilna vrednost električne provodljivosti (σ). Konduktometar je pre početka merenja kalibriran standardnim rastvorom kalijum-hlorida koncentracije 0,01M.

Ispitivanje reoloških karakteristika

Ispitivanje reoloških karakteristika izvršeno je korišćenjem rotacionog reometra Rheolab MC120 (Paar Physica, Nemačka) uz merni sistem kupa-ploča MK22. Izmereni su maksimalni prividni viskozitet pri minimalnoj brzini smicanja ($4,08\text{ s}^{-1}$) i minimalni prividni viskozitet pri maksimalnoj brzini smicanja (200s^{-1}) na temperaturi od $20^{\circ}\text{C} \pm 0,1^{\circ}\text{C}$. Na osnovu dobijenih podataka, konstruisane su krive zavisnosti napona smicanja od brzine smicanja (krive tečenja). Izvedena su tri merenja za svaki ispitivani krem, a rezultati su izraženi kao srednja vrednost \pm SD.

Određivanje sposobnosti emulgovanja vode i tečnog parafina

Sposobnost ambifilnog krema da emulguje vodu određena je postepenim dodavanjem prečišćene vode u količini od 0,5 g u Basiscreme DAC, tako da su dobijeni uzorci u kojima su odnosi Basiscreme DAC:prečišćena voda 1:1, 1:2, 1:5 i 1:10. Ispitana je fizička stabilnost nastalih kremova/emulzija za kožu, i to organoleptičkim posmatranjem istih nakon 24 časa, 7, 14 i 28 dana čuvanja uzorka u dobro zatvorenim staklenim kontejnerima, zaštićeno od svetlosti, na temperaturi od $25^{\circ}\text{C} (\pm 3^{\circ}\text{C})$, kao i ponašanje istih uzorka nakon testa gravitacionog stresa (centrifugiranje).

Gravitacioni stres podrazumeva test centrifugiranja i izведен je na laboratorijskoj centrifugi MPW 56/MPW Med. Instruments, Poljska. Uzorci su podvrgnuti centrifugiranju na 3000 obrtaja/min dva puta po 15 min, nakon čega su praćene promene stuba krema/emulzije kojom je ispunjena kiveta (kremiranje ulja, razdvajanje

faza). Uzorci kod kojih nakon centrifugiranja nije došlo do odvajanja faza, označeni su kao fizički stabilni (5).

Sposobnost Basiscreme DAC da emulguje tečni parafin, određena je postepenim dodavanjem tečnog parafina u količini od 0,5 g u krem, na sobnoj temperaturi, tako da je dobijen uzorak u kom je odnos Basiscreme DAC:tečni parafin bio 1:0,25.

Rezultati i diskusija

Polazeći od podataka navedenih u monografiji Basiscreme DAC, može se zaključiti da isti kremovi, uzeti iz apoteka (ap.) - Basiscreme DAC (serije 100610115, 104060715 i 10524105) imaju belu boju, meku, i više (serija 100610115) ili neznatno (serije 104060715 i 10524105) zrnastu konzistenciju. Zrnasta struktura nije u opisu osobina ovog krema u monografiji, što ukazuje da Basiscreme DAC (ap.) ne zadovoljava u potpunosti zahteve monografije DAC/NRF 2013, koji se odnose na osobine preparata, i direktno su u vezi sa izmenjenim postupkom izrade. U delu monografije Basiscreme DAC pod nazivom „izrada” se navodi: „U izradi ovog krema mogu se primeniti i druge metode, pod uslovom da daju proizvod istog kvaliteta kao i opisani postupak izrade”, što obavezuje apoteku ili galensku laboratoriju apoteke da sprovede postupak izrade ovog oficinalnog krema tako da Basiscreme DAC ispunjava sve zahteve kvaliteta postavljene u monografiji DAC/NRF (13).

pH

Kod svakog od kremova iz tri ispitivane serije (100610115, 104060715 i 10524105), izvedena su tri merenja, i izračunata srednja vrednost pH_{sr}, koja je iznosila, redom: 5,88, 5,66 i 5,76. S obzirom na to da izmereni pH Basiscreme DAC ulazi u opseg pH 5 – 6, može se zaključiti da odgovara zahtevima navedenim u Tabellen für die Rezeptur, DAC/NRF 2013, odnosno ispunjava zahteve za galenski/farmaceutsko-tehnološki profil oficinalne podloge za dermalnu primenu (14). U Srbiji se godinama, neke laboratorije za ispitivanje i kontrolu lekova, u proceni pH dermatoloških podloga tipa kremova, pozivaju na Pravilnik o uslovima u pogledu zdravstvene ispravnosti predmeta opšte upotrebe, koji se mogu stavljati u promet, i navode interval pH 3,5 – 8,0, koji se odnosi na kozmetička sredstva koja ostaju duže na koži (18). Kako je Basiscreme DAC namenjen za izradu farmaceutskih preparata za kožu, i oficinalan preparat prema DAC/NRF, on treba da ispuni zahteve navedene u monografiji DAC/NRF. U slučaju da preparat za dermalnu primenu nema monografiju, ili se u njoj ne postavlja određeni interval pH, farmaceut se može voditi preporukom za farmaceutske preparate za kožu (pH 4,0 – 7,0), uz odstupanje u slučaju da stabilnost lekovite supstance i preparata zahtevaju pH izvan ovog opsega (5).

Električna provodljivost

Električna provodljivost svakog od kremova iz 3 ispitivane serije izmerena je najpre tri puta, a kako su dobijene vrednosti znatno varirale, merenje je ponovljeno još dva puta. U Tabeli 1 prikazani su intervali vrednosti električne provodljivosti od najniže do najviše izmerene električne provodljivosti kod svake od tri ispitivane serije Basiscreme DAC.

Tabela I Interval vrednosti električne provodljivosti izmerenih za svaku od tri ispitivane serije Basiscreme DAC (20,6°C)

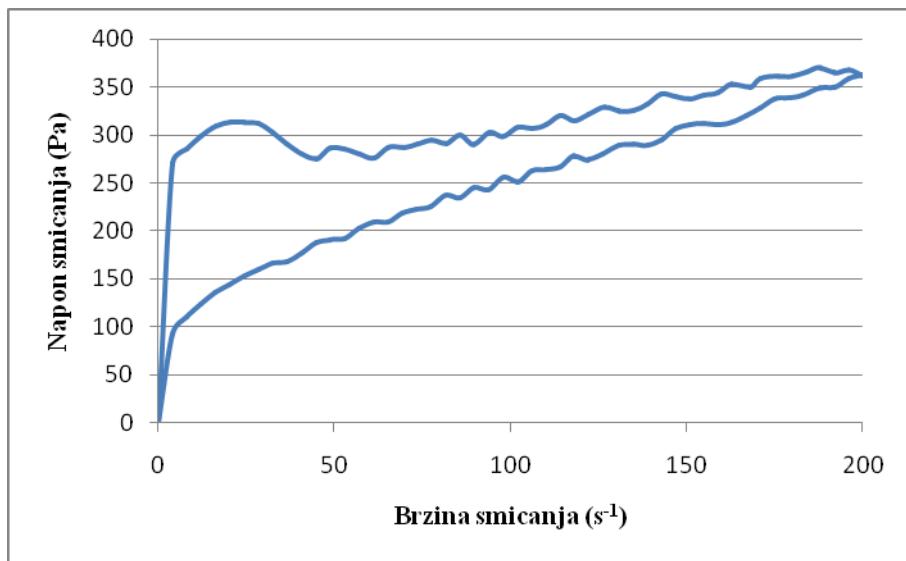
Table I Range of values of electrical conductivity for each of three investigated batches of Basiscreme DAC (20,6°C)

Serija	Interval izmerenih vrednosti električne provodljivosti [$\mu\text{S}/\text{cm}$]
100610115	1,513 – 3,040
104060715	3,940 – 7,450
105241015	3,310 – 7,970

Dobijeni rezultati iz pet merenja, u ispitivanoj seriji 100610115 Basiscreme DAC, variraju od 1,5 – 3,04 $\mu\text{S}/\text{cm}$, i vrednosti su bile znatno niže od vrednosti električne provodljivosti ostala dva ispitivana krema. Relativno veće razlike u vrednostima električne provodljivosti kod tri krema iz različitih serija istog proizvođača, mogu se objasniti nehomogenošću krema. Variranja vrednosti električne provodljivosti uočena su i ispitivanjem druge dve serije krema, u opsegu 3,94 – 7,45 $\mu\text{S}/\text{cm}$ (serija 104060715), odnosno od 3,31 – 7,97 $\mu\text{S}/\text{cm}$ (serija 105241015). Vrednosti od 1 do 50 $\mu\text{S}/\text{cm}$ ukazuju da je Basiscreme DAC emulzija mešovitog tipa i potvrđuju njegovu ambifilnu prirodu (5). Niske vrednosti električne provodljivosti u skladu su sa relativno visokim udelom masne faze, odnosno sadržajem vode manjim od 50%.

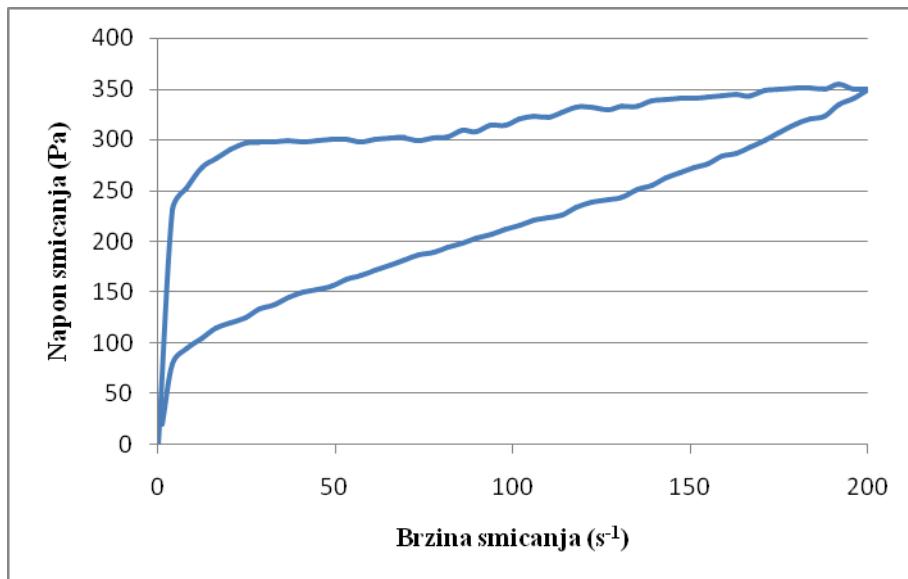
Reološke karakteristike

Basiscreme DAC (sve tri ispitivane serije) pokazuje nenjutnovsko, plastično tečenje. Na slikama 1, 2 i 3, krive tečenja pokazuju postojanje prinosnog napona, odnosno napona popuštanja (τ_0), koji se mora savladati, pre nego što započe tečenje polučvrstih farmaceutskih preparata, kao i tiksotropno ponašanje. Unošenjem u koordinatni sistem vrednosti za τ i D kod ispitivanog krema, kada na njega deluje sila koja se konstantno povećava (uzlazna kriva), a zatim se smanjuje po prestanku dejstva sile (silazna kriva), dobijena je odgovarajuća površina između uzlazne i silazne krive proticanja, koja predstavlja histereznu površinu/petlju, a koja je merilo tiksotropnog ponašanja, tj. ponašanja uzorka prilikom nanošenja na kožu (Slika 1).



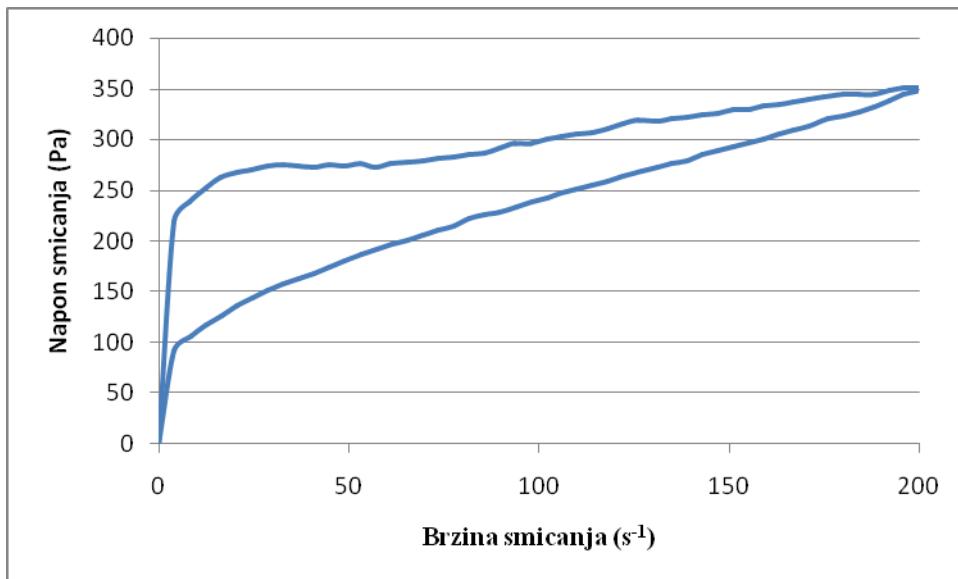
Slika 1. Kriva tečenja Basiscreme DAC (serija 100610115)

Figure 1. Flow curve of Basiscreme DAC (batch 100610115)



Slika 2. Kriva tečenja Basiscreme DAC (serija 105241015)

Figure 2. Flow curve of Basiscreme DAC (batch 105241015)



Slika 3. Kriva tečenja Basiscreme DAC (serija 104060715)

Figure 3. Flow curve of Basiscreme DAC (batch 104060715)

Plastično tečenje sa tiksotropijom je poželjno kod farmaceutskih preparata za primenu na koži. Plastično proticanje odlikuje se postojanjem prinosnog napona; preparat počinje da teče savladavanjem ovog napona. Tiksotropnim sistemima nazivaju se oni sistemi kod kojih dolazi do smanjenja prividnog viskoziteta, ne samo u funkciji primenjene sile (deformacije), već i u funkciji vremena. Za ovakve sisteme, karakteristično je postojanje odgovarajuće trodimenzionalne strukture, usled formiranja brojnih sekundarnih veza između komponenata krema; pod uticajem primenjene sile, veze se raskidaju, i viskozitet se smanjuje. Nakon prestanka dejstva sile smicanja, struktura sistema se postepeno oporavlja, a vreme potrebno za restrukturiranje, zavisi od vremena trajanja dejstva sile. Tiksotropno ponašanje Basiscreme DAC odražava se na njegova aplikativna svojstva: razmazivanjem omekšava (*sol* stanje), a po prestanku aplikacije dolazi do obrazovanja filma na koži, kao posledica oporavljanja strukture (*gel* stanje). Postojanje prinosnog napona i tiksotropno ponašanje ukazuju na stabilnu unutrašnju strukturu Basiscreme DAC (5,19,20).

Prividni viskozitet Basiscreme DAC opada sa povećanjem brzine smicanja, što je očekivano i uobičajeno ponašanje kod polučvrstih farmaceutskih preparata. Maksimalni prividni viskozitet krema serije 100610115, 104060715, odnosno 105241015 pri minimalnoj brzini smicanja ($4,08\text{ s}^{-1}$) iznosio je, redom, 66110, 53800, odnosno 56700

mPa·s, dok su pri maksimalnoj brzini smicanja (200 s^{-1}) izmerene slične vrednosti minimalnog prvidnog viskoziteta, redom: 1808, 1740, odnosno 1750 mPa·s.

Sposobnost emulgovanja vode i tečnog parafina

Ispitivanjem sposobnosti emulgovanja vode i tečnog parafina utvrđeno je da Basiscreme DAC ima osobine ambifilnog krema, jer dodatkom prečišćene vode u količini od 25 % *m/m*, on obrazuje stabilan krem, što se dešava i nakon dodatka 25 % *m/m* tečnog parafina.

Daljim, postepenim dodavanjem vode uzorku Basiscreme DAC, utvrđeno je da može da emulguje i do 1000 % prečišćene vode. Nakon dodatka prečišćene vode, u količini od 250 % *m/m*, iz Basiscreme DAC nastaje emulzija tipa u/v, pošto se „prevazilazi” kapacitet spoljašnje gel kristalne faze ovog krema da zadrži polučvrstu konzistenciju. Ispitivanje fizičke stabilnosti kremova, dobijenih emulgovanjem vode u Basiscreme DAC u navedenim odnosima (Basiscreme DAC : prečišćena voda = 1:1, odnosno 1:2) i emulzija za kožu (odnos Basiscreme DAC : prečišćena voda = 1:5, odnosno 1:10) pokazalo je:

1. izrađeni kremovi su bele boje, polučvrste konzistencije, ali manjeg viskoziteta u odnosu na sam Basiscreme DAC, i nemaju zrnastu strukturu,
2. izrađene emulzije bile su bele boje, očekivano nižeg viskoziteta u odnosu na krem dobijen emulgovanjem 25 % vode u Basiscreme DAC, i nisu imale zrnastu strukturu,
3. organoleptičkim posmatranjem pomenutih uzoraka: nakon 24h, odnosno 7, 14 i 28 dana čuvanja na temperaturi od $25\text{ }^{\circ}\text{C} \pm 3\text{ }^{\circ}\text{C}$, nisu uočeni znaci odvajanja faza, niti kremiranja.

U izrađenim kremovima nisu uočeni znaci fizičke nestabilnosti, nakon testa centrifugiranja. U emulziji u kojoj je odnos Basiscreme DAC i prečišćene vode bio 1:5, nakon 15 minuta centrifugiranja na 3000 obrtaja/min, došlo je do sedimentacije i izdvajanja vodene faze na dnu kivete. Intenzitet sedimentacije nije se promenio nakon drugih 15 minuta centrifugiranja na istoj brzini. Kad je reč o emulziji sa najvećim procentom vode (Basiscreme DAC : prečišćena voda = 1:10), uočeno je odvajanje faza već posle prvih 15 minuta centrifugiranja na 3000 obrtaja/min, a po završetku testa centrifugiranja, ova promena je bila još uočljivija. Zaključeno je da emulzije izrađene iz Basiscreme DAC uz dodatak 500 % ili 1000 % prečišćene vode, nisu fizički stabilne.

Zaključak

Basiscreme DAC (serije 100610115, 104060715 i 105241015) izrađen u galenskoj laboratoriji Apoteke Beograd je krem bele boje, meke konzistencije, pH u intervalu od 5 – 6, što je u skladu sa monografijom DAC/NRF 2013.

Basiscreme DAC pokazuje nenjutnovsko, plastično tečenje sa tiksotropijom, što je poželjno kod farmaceutskih preparata za primenu na koži. Na sobnoj temperaturi Basiscreme DAC emulguje najmanje 25 % *m/m* tečnog parafina, čime nastaje fizički stabilan krem, a dodatkom prečišćene vode (do 200 % *m/m*), nastaju fizički stabilni kremovi tipa U/V.

Emulgovanjem prečišćene vode u količini od 250 % *m/m* ili većoj (do 1000 % *m/m*), iz Basiscreme DAC nastaju emulzije tipa u/v, čija se fizička stabilnost smanjuje sa povećanjem sadržaja vode.

Očekujemo da će ovaj rad pomoći farmaceutima u apotekama u Srbiji da bolje upoznaju i više koriste Basiscreme DAC kao dermatološku podlogu u izradi magistralnih preparata.

Zahvalnost

Autori se zahvaljuju Apoteci Beograd na uzorcima Basiscreme DAC (serije 100610115, 104060715 i 105241015) koji su korišćeni za ispitivanja u ovom radu.

Literatura

1. Daniels R, Knie U. Galenics of dermal products – vehicles, properties and drug release. Journal der Deutschen Dermatologischen Gesellschaft 2007;5(5): 367-383.
2. Hadgraft J, Whitefield M, Rosher PH. Skin penetration of topical formulations of ibuprofen 5%: an in vitro comparative study. Skin Pharmacol Physiol 2003;16: 137-142.
3. Santos P, Watkinson AC, Hadgraft J, Lane MB. Oxybutynin permeation in skin: the influence of drug and solvent activity. Int. J. Pharm. 2010;384: 67-72.
4. Watkinson RM, Guy RH, Oliveira G, Hadgraft J, Lane ME. Optimization of cosolvent for topical drug delivery – III: influence of lipophilic vehicles on ibuprofen permeation. Skin Pharmacol. Physiol. 2011;24: 22-26.

5. Vučeta G, Milić J, Primorac M, Savić S, Farmaceutska tehnologija I , Univerzitet u Beogradu – Farmaceutski fakultet, 2012.
6. Goreta R, Pepić I. Funkcionalne podloge i pripravci za dermalnu primjenu. Farm glas. 2014;70: 551-576.
7. European Pharmacopoeia 8th Edition, Council of Europe, Strasbourg, 2013.
8. Đekić Lj, Čalija B, Vučeta G. Izrada magistralnih i galenskih lekova – propisi i standardi. Arh farm 2013;5:443-469.
9. European Pharmacopoeia 7th Edition, Supplement 7.7, Strasbourg, EDQM, 2012. 5291-3
10. Resolution CM/ResAP(2011)1 on quality and safety assurance requirements for medicinal products prepared in pharmacies for the special needs of patients. Council of Europe, Committee of Ministers, 2011, [cited 2015 october 20]. Available from: <https://wcd.coe.int/ViewDoc.jsp?id=1734101&Site=CM>
11. Vučeta G, Pantelić I, Savić S. Magistralni i galenski lekovi u dermatologiji – prošlost ili sadašnjost. Arh farm 2013; 63:129-146.
12. Vučeta G, Savić S. Magistralni lekovi sa kortikosteroidima. Arh farm 2008;58(2-3): 121-136.
13. Deutscher Arzneimittel Codex, Neues Rezeptur-Formularium. Stuttgart: Govi VerlagPharmazeutischer Verlag GmbH, Eschborn Deutscher Apotheker-Verlag, 2013.
14. Tabellen für die Rezeptur. Plausibilitätsprüfung in der Apotheke, 7. überarbeitete Auflage. Govi-Verlag Pharmazeutischer Verlag GmbH, Eschborn 2013.
15. Juninger HE. Pharmaceutical Emulsions and Creams. In: Sjöblom J. Emulsions: A Fundamental and Practical Approach. Kluwer Academic Publishers, P.O. Box 17, 3300 AA, Dordrecht, The Netherlands. 1992. 189-205
16. European Pharmacopoeia 7th Edition, Council of Europe, Strasbourg, 2010.
17. Agencija za lekove i medicinska sredstva Srbije. Sažetak karakteristika leka: Linola®Urea krem, 120 mg/g.
<http://www.alims.gov.rs/ciril/files/lekovi/smpc/515-01-1541-12-001.pdf>
Pristupljeno sajtu septembra 2015.
18. Pravilnik o uslovima u pogledu zdravstvene ispravnosti predmeta opšte upotrebe koji se mogu stavljati u promet, Sl. list SFRJ 26/83, 61/84, 56/86, 50/89 i 18/91.
19. Aulton ME. Aulton's Pharmaceutics: The Design and Manufacture of Medicines, Churchill Livingstone, Edinburgh, 2013.
20. Remington: The Science and Practice of Pharmacy. 22th ed. Easton: Marc Publishing Company, 2013.

Basiscreme DAC – characteristics and possibility of use for compounding drugs in pharmacy

Martina Martinović, Nina Stanković, Gordana Vuleta*

University of Belgrade–Faculty of Pharmacy, Department od Pharmaceutical Technology and Cosmetology, Vojvode Stepe 450,11221 Belgrade

*Corresponding author: Prof. dr Gordana Vuleta; gocka@pharmacy.bg.ac.rs

Summary

Despite prescribing of industrially produced dermatological preparations, successful local treatment of certain diseases is still dependent on the knowledge and skills of pharmacists when compounding magistral and galenic drugs. Traditionally, dermatologists are those who prescribe these drugs most frequently, requiring from the pharmacist to compound a drug of a certain composition, by using appropriate excipients or a suitable base which are usually not prescribed by specialist.

Basiscreme DAC which synonym is Amphiphilic cream, can be used as a base for compounding magistral drugs/preparations, and it is official by DAC/NRF 2013. Basiscreme DAC can be used for compounding of hydrophilic/lipophilic creams, topical emulsions and water-emulsifying ointments. Furthermore, it is suitable in compounding preparations used for subacute and chronic skin diseases and cosmetic products, as well.

The aim of this work was to represent data from monograph in DAC/NRF, which are referring to composition, process of manufacture, characteristics, tests and usage of Basiscreme DAC for compounding of magistral drugs in pharmacies in Serbia, and also numerous pharmaceutical preparations of various drugs (dermatosteroids, dexpanthenol, isosorbide dinitrate etc.); relevant data can be found in DAC/NRF.

Keywords: Basiscreme DAC, amphiphilic cream, base, magistral drug

Farmakogenetika i farmakogenomika - uticaj jednonukleotidnih polimorfizama na odgovor na lekove

Ivan Jančić*, Nevena Arsenović Ranin

Univerzitet u Beogradu – Farmaceutski fakultet, Katedra za mikrobiologiju i imunologiju, Vojvode Stepe 450, 11221 Beograd, Srbija

*Autor za korespondenciju: e-mail ijancic@pharmacy.bg.ac.rs (Tel: +381 11 3951207)

Kratak sadržaj

Individualne varijacije u odgovoru na lekove važan su klinički problem i mogu dovesti do potpunog odsustva reakcije na lek i pojave neželjenih reakcija na lekove. Brojni nalazi ukazuju da su razlike u odgovoru bolesnika na isti lek uslovljene genetskim varijacijama, i predmet su istraživanja farmakogenetike. Iako se farmakogenetika uglavnom izjednačuje sa pojmom farmakogenomika, farmakogenetika se uglavnom odnosi na varijacije u jednom genu koje utiču na odgovor na lek, dok je farmakogenomika šira oblast, koja ispituje kako svi geni u genomu povezani sa metabolizmom određenog leka mogu uticati na odgovor na dati lek. U ovom radu prevashodno će biti opisane individualne varijacije u odgovoru na lekove koje nastaju usled jednonukleotidnih polimorfizama u genima koji kodiraju ciljne proteine lekova, enzime koji metabolišu lekove, transportere lekova, kao i polimorfizmi gena koji su odgovorni za toksičnost i preosetljivost na lekove. Određivanje farmakogenetskog profila bolesnika moglo bi da ukaže na bolesnike koji su u povećanom riziku od pojave neželjenih efekata lekova (kod kojih bi trebalo da se primene niže doze ili drugi lekovi) i na one kod kojih će se najverovatnije postići željeni terapijski efekat, odnosno da omogući individualizaciju terapije.

Ključne reči: individualna varijabilnost u odgovoru na lek, farmakogenomika, farmakogenetika, polimorfizmi, individualizovana terapija

Uvod

Poznato je da neki lek, koji se u lečenju velikog broja bolesnika pokazao kao efikasan, kod jednog broja bolesnika nema terapijski efekat. Osim toga, lek koji je neškodljiv za veliku većinu bolesnika kod nekih može izazvati ozbiljne neželjene reakcije, pa čak i smrt. Iako se za veliku individualnu varijabilnost u efikasnosti i bezbednosti lekova zna od samih početaka humane medicine, pokazalo se da objašnjenje ove raznolikosti u reakciji na neki lek nije nimalo jednostavan zadatak. Danas nema dileme da je velika individualna varijabilnost u efikasnosti leka i reakcijama na lek veoma važna odrednica u kliničkoj upotrebi tog leka, a može biti i odlučujući faktor u povlačenju sa tržišta nekih lekova, kao i prepreka u razvoju novih terapijskih agenasa.

Kasnih 1950-tih godina, na osnovu kliničkih zapažanja, kao važan faktor individualne varijabilnosti u odgovoru na lek, prepoznata je genetska raznolikost među ljudima (1-3). Veoma interesantno bilo je i zapažanje da su individualne varijacije u odgovoru na lek često veće između bolesnika, nego što su kod istog bolesnika koji ponovo prima lek posle nekog vremena (4, 5). Ovakva zapažanja su doprinela nastanku farmakogenetike, nauke čiji je zadatak bio da ukaže na uticaj genetskih varijacija pojedinih gena na individualnu varijabilnost u odgovoru na terapiju. Kako je raslo znanje vezano za humanu genetiku, postalo je jasno da postoje individualne varijacije u sekvencama dezoksiribonukleinske kiseline (DNK) odgovorne za različite aspekte metabolizma određenih lekova, kao što su sinteza i/ili regulacija ciljnih proteina na koje deluju lekovi, enzima koji metabolišu lekove i transportera lekova. Pokazano je da ove varijacije mogu uticati na individualne razlike u odgovoru na lek i na pojavu neželjenih dejstava leka kod nekih bolesnika (6-12). Sa ovog stanovišta, sekvinciranje kompletног humanog genoma i razvoj novih molekularnobiooloških tehnika omogućili su začajan napredak u analiziranju uticaja varijacija genskih sekvenci na patogenezu nekih bolesti kao i na terapijski odgovor na lekove. Bolje poznavanje interakcije samog genoma i razvoja bolesti, kao i interakcije genoma i lekova dovelo je do proširivanja znanja iz oblasti farmakogenetike i transformacije same farmakogenetike u širu naučnu oblast – farmakogenomiku.

U ovom radu prevashodno će biti opisane individualne genetičke varijacije koje nastaju usled jednonukleotidnih polimorfizama (*engl. single nucleotide polymorphism, SNP*) u genima koji kodiraju ciljne proteine lekova, enzime koji metabolišu lekove, transportere lekova, kao i polimorfizmi gena koji su odgovorni za toksičnost i preosetljivost na lek, koji mogu biti povezani sa varijacijama u odgovoru na lek. Kada govorimo o SNP-ovima važno je znati da je učestalost pojedinih genetičkih varijacija različita u različitim etničkim grupama. Polimorfizam koji je čest u jednoj populaciji može biti izuzetno redak u drugoj, pa je samim tim njegov značaj kao farmakogenomskog markera ograničen samo na populaciju u kojoj je zastupljen.

Polimorfizmi u genima koji kodiraju ciljne proteine lekova

Polimorfizmi u genima koji kodiraju ciljne proteine lekova mogu direktno uticati na funkciju samog proteina, na njegovu interakciju sa lekom, a mogu imati uticaj i na jedno i na drugo istovremeno. U svakom slučaju, oni mogu imati značajne kliničke efekte na odgovor na lek.

Najčešće primenjivani oralni antikoagulans danas je varfarin. Ovaj lek deluje na enzim vitamin K epoksidnu reduktazu (*engl.* vitamin K epoxide reductase, VKOR), preciznije na subjedinicu 1 enzima (*engl.* VKOR complex subunit 1, VKORC1) (13, 14). Varfarin inhibira enzim VKORC1 što dovodi do smanjenja redukcije vitamina K i produkcije hipofunkcionalnih faktora koagulacije, što dovodi do sprečavanja koagulacije. Opisano je više genetičkih varijanti (polimorfizama) u kodirajućem regionu gena za *VKORC1* među kojima su i A41S, V45A, R58G, V66M, i L128R. Učestalost ovih varijanti u humanoj populaciji je mala (< 0,1%), ali je za svaku od njih pokazano da je povezana sa varfarinskom rezistencijom (14-18). Ovde je važno naglasiti da i različite genetičke varijante nekih drugih gena (npr. *CYP2C9*, *PROC*, *GGCX*) takođe mogu uticati na terapijski odgovor na varfarin. Procenjuje se da je uticaj *VKORC1* genetičkih varijanti na određivanje doze varfarina približno 25% (19).

Ciljni receptor za β -agoniste, kao što je salbutamol, je β_2 -adrenoreceptor, kodiran *ADRB2* genom. Dve genetičke varijante u *ADRB2* genu, R16G i Q27E, dovode do promena na nivou samog *ADRB2* proteina, odnosno β_2 -adrenoreceptora. R16G genetička varijanta dovodi do stvaranja proteina u kojem je 16. aminokiselina arginin (Arg) ili glicin (Gly), dok Q27E indukuje stvaranje proteina u kojem je 27. aminokiselina u proteinu glutamin (Gln) ili glutamat (Glu). Obe varijacije su česte, s alelskim učestalostima od 0,4 i 0,6, respektivno. Obe varijante imaju veliki klinički značaj prilikom terapije β -agonistima. Na primer, salbutamol dovodi do veće i brže bronhodilatacije kod Arg16/Arg16 homozigota u odnosu na nosioce Gly16 alela (Arg16/Gly16 i Gly16/Gly16). Pokazano je da je maksimalni procenat uvećanja forsiranog ekspiratornog volumena u prvoj sekundi 18% kod nosilaca Arg16/Arg16, a samo 5% kod bolesnika sa Gly16 aleлом, posle oralne doze od 8 mg salbutamola (20). U drugoj studiji pokazano je da infuzija izoproterenola dovodi do skoro kompletne desenzitizacije posle 90 minuta kod pacijenata sa Arg16/Arg16 genotipom, za razliku od pacijenata sa Gly16/Gly16 genotipom. Dalje, kada je u pitanju genetička varijanta Q27E, pokazano je da bolesnici koji su homozigotni nosioci Glu alela imaju veću maksimalnu vazodilataciju izazvanu izoproterenolom od onih sa Gln27 aleлом (21).

Polimorfizmi u genima koji kodiraju enzime koji metabolišu lekove

Verovatno da nema leka u čijem metabolizmu ne učestvuje neki od mikrozomalnih citohrom P450 enzima (*engl.* cytochrome P450, CYP). U mnogim

slučajevima polimorfizmi gena koji kodiraju ove enzime su glavni faktor koji utiče na koncentraciju leka u plazmi, detoksifikaciju ili aktivaciju leka u slučaju prolekova.

CYP2D6 metaboliše između 20% i 25% svih lekova dostupnih na tržištu, uključujući β-blokatore, antidepresive, antiaritmike i antipsihotike (22). Gen *CYP2D6* je visoko polimorfni. Alelske varijante su klasifikovane na osnovu enzimske aktivnosti i prikazane su u Tabeli I.

Tabela I *CYP2D6* polimorfizmi i karakteristike

Table I *CYP2D6* polymorphisms and characteristics

Fenotip	Karakteristike	Kliničke posledice
slabi metabolizeri	Glavne varijante: <i>CYP2D6*3</i> , -*4, -*5, -*6. Enzim inaktivan. 5% – 10% belci, 1% – 2% Kinezi i Japanci.	Visoka koncentracija leka u plazmi. Povećan rizik od neželjenih efekata leka. Upotreba manje doze leka.
intermedijarni metabolizeri	Glavne varijante: <i>CYP2D6*9</i> , -*10, -*41. Slaba rezidualna enzimska aktivnost.	Manja doza za neke bolesnike.
ekstenzivni metabolizeri	Nije uniformna grupa. Normalan metabolizam leka.	Standardne doze za većinu bolesnika.
ultra ekstenzivni metabolizeri	Multiple kopije <i>CYP2D6</i> . Veoma jaka enzimska aktivnost. 1% – 2% belaca, 30% Etiopljana.	Veoma niska konc. leka u plazmi. Gubitak efikasnosti leka. Potrebne veće doze leka.

Preuzeto iz 22.

Danas su metode za efikasno kliničko testiranje *CYP2D6* alelskih varijanti lako dostupne, i zbog toga, ukoliko je CYP2D6 uglavnom odgovoran za postizanje odgovarajućeg nivoa leka u krvi, lekar će odrediti dozu koja je bezbedna i efikasna za konkretnog bolesnika. Tako bi bolesnici koji su nosioci *CYP2D6*3*, -*4, -*5, ili -*6 alela trebalo da dobiju smanjenu dozu antidepresiva da bi se izbegla ili umanjila neželjena dejstva (23).

Drugačija je uloga enzima CYP2D6 u metabolizmu leka tamoksifena koji se koristi u terapiji kancera dojke. CYP2D6 određuje brzinu konverzije proleka tamoksifena u aktivne metabolite, 4-hidroksitamoksifen i endoksifen. Oba metabolita

imaju značajno veći afinitet za ciljni protein (estrogenski receptor, ER) i bolje inhibiraju deobu kancerskih ćelija u terapiji ER pozitivnog kancera dojke u odnosu na sam tamoksifen (24), odnosno kada CYP2D6 enzim ne radi. Bolesnice koje imaju multiple kopije funkcionalnog *CYP2D6* gena imaju veću srednju koncentraciju endoksifena u plazmi od drugih bolesnica, što je posledica veće aktivnosti samog CYP2D6 enzima (25). Alel *CYP2D6*4* je najčešći nefunkcionalni alel u ovom genu kod belaca. U retrospektivnoj studiji, u kojoj je tamoksifen davan ženama u menopauzi kojima je hirurški uklonjen ER pozitivan kancer dojke, bolesnice sa *CYP2D6*4/*4* genotipom su imale kraće vreme do relapsa i lošije preživljavanje u poređenju sa bolesnicama koje su imale jedan ili ni jedan *4 alel (26). S druge strane, veća učestalost umerenih do ozbiljnih napada valunga je zabeležena kod bolesnica koje imaju jedan ili nemaju ni jedan *4 alel (20%) u odnosu na homozigotne nosice *4 alela (0%). Nedavno je takođe pokazano da u poređenju sa drugim ženama koje imaju rak dojke i primaju tamoksifen, one koje imaju HER2 (*engl.* human epidermal growth factor receptor 2)/neu pozitivni rak dojke i koje su još i CYP2D6 izrazito brzi metabolizeri tamoksifena usled prisustva više kopija gena za *CYP2D6*, imaju manju stopu recidiva (27).

Enzim CYP2C9 je uključen u metabolizam mnogih klinički značajnih lekova (tolbutamid, fenitoin, S-varfarin, flurbiprofen i dr.). Do danas je identifikovano više od 30 alelskih formi *CYP2C9* gena. Dve najčešće alelske varijante su *CYP2C9*2* i *CYP2C9*3*, koje utiču na znatno smanjenu enzimsku aktivnost. Približno 1% bele populacije su homozigotni nosici alela *CYP2C9*2*, a 0,4% su homozigotni nosioci alela *CYP2C9*3* (28). U kineskoj i japanskoj populaciji homozigotni nosici alela *CYP2C9*2*, *CYP2C9*3* i heterozigotni nosici alela *CYP2C9*1/-*2* su veoma retki, dok heterozigotni nosioci *CYP2C9*1/-*3* čine 4% ovih populacija. Kod bolesnika koji primaju varfarin i imaju divlji tip ovog enzima (*CYP2C9*1*) S-varfarin se metaboliše normalno. Bolesnici koji imaju *CYP2C9*2* i/ili *CYP2C9*3* alele su slabi metabolizeri pa zahtevaju redukovane dnevne doze leka. Kod ovih bolesnika rizik od neželjenih efekata varfarina je 2 do 3 puta veći u odnosu na nosioce *CYP2C9*1*. Ispitivanje na 200 pedijatrijskih bolesnika koji su primali varfarin posle operacije srca, pokazalo je da se bolesnici, kod kojih se doza leka određuje na osnovu genotipa, zadržavaju u proseku nedelju dana kraće na bolničkom lečenju u odnosu na bolesnike kod kojih je terapija određena standardnom procedurom (29).

Pored citohromnih enzima i mnogi drugi enzimi igraju važnu ulogu u metabolizmu lekova i samim tim utiču i na njihov efekat. Primer je tiopurin S-metiltransferaza (*engl.* thiopurine S-methyltransferase, TPMT) koja katalizuje S-metilaciju 6-merkaptopurina, azatioprina i tioguanina i tako ih inaktivira. Ovi lekovi se koriste u lečenju leukemija i autoimunskih bolesti. Identifikovano je više od 20 alelskih varijanti *TPMT* gena, pri čemu *TPMT*2*, *TPMT*3A* i *TPMT*3C* aleli najčešće utiču na smanjenu aktivnost *TPMT* enzima (30, 31). Približno 90% bele populacije ima visoku

TPMT enzimsku aktivnost, 10% umerenu aktivnost (heterozigotni nosioci) i 0,3% slabu ili uopšte nema TPMT enzimsku aktivnost. Po dobijanju standardne doze leka nosioci defektnog *TPMT* alela akumuliraju više citotoksičnih tiopurinskih nukleotida u odnosu na nosioce divljeg tipa, što dovodi do ozbiljne hematološke toksičnosti. Kod ovih pacijenata neophodno je odrediti manju dozu leka. Takođe, pokazano je da promotorski region *TPMT* gena može sadržati različit broj GC bogatih tandemskih ponovaka (*engl.* GC-rich tandem repeats - VNTRs). Konkretno, A, B i C, koji sadrže od 3 do 9 ponovaka daju VNTR A_nB_mC arhitekturu *TPMT* promotora što utiče na transkripciju gena, pa time i na količinu enzima (32).

Neželjene reakcije na lek su glavni ograničavajući faktor za primenu nekog leka u terapiji. Neki od neželenih efekata mogu se povezati sa polimorfizmima u genima koji su odgovorni za metabolizam ovih lekova. Lek irinotekan je potentni inhibitor DNK topoizomeraze I koji se koristi u terapiji kolorektalnog kancera i kancera pluća (33). Karboksilacijom u jetri, lek se prevodi u svoj aktivni metabolit SN-38. Visoki nivoi SN-38 mogu da dovedu do ozbiljnih neželenih efekata, u koje spadaju teška mijelosupresija kod 15% do 20% bolesnika i ozbiljna dijareja kod 20% do 25% bolesnika. SN-38 se metaboliše glukouronidacijom preko enzima UDP-glukuronosiltransferaze 1A1 (UGT1A1) i u manjoj meri preko članova drugih UGT familija. Konjugovani SN-38 se sekretuje u žuč preko ABCC2 transportera i verovatno još nekoliko sličnih transportera. Gen za *UGT1A1* je visoko polimorf, pa se nosioci nekih alelskih varijanti potencijalno mogu suočiti sa opisanim neželenim efektima. Varijanta *UGT1A1*28* ima sedam, umesto šest TA ponovaka u promotoru *UGT1A1* gena, što dovodi do znatnog smanjenja ekspresije samog gena (za približno 30% do 80%) i kao posledica toga dolazi do smanjenja glukouronidacije metabolita SN-38 (34, 35). Nosioci *UGT1A1*28* alela imaju povećane nivoe SN-38 u krvi i zato su podložniji neželenim efektima pri terapiji normalnim dozama irinotekana.

Neželjene reakcije na lek mogu uključiti i reakcije preosetljivosti, koje mogu biti opasne po život, zahtevaju hospitalizaciju i promenu leka. Lek abakavir, potentni inhibitor reverzne transkriptaze HIV-1, može izazvati potencijalno smrtonosni sindrom preosetljivosti, kod približno 5% do 9% pacijenata. Ova preosetljivost je snažno povezana sa genetičkom varijantom *HLA-B*5701* i kombinacijom ovog alela sa *Hsp70-Hom M493T* polimorfizmom (36, 37). *HLA-B*5701* je molekul koji prezentuje antigen, dok *Hsp70* proteini potpomažu prezentaciju antiga, pre svega ukrštenu prezentaciju egzogenih antiga $CD8^+$ T ćelijama. Prepostavlja se da *HLAB*5701* i *Hsp70-Hom* zajedno utiču na način na koji se abakavir prezentuje T limfocitima što dovodi do reakcije preosetljivosti. Prospektivna, duplo – slepa, randomizirana studija u koju je bilo uključeno 1956 bolesnika inficiranih HIV-1 virusom iz 19 zemalja, pokazala je da prospektivno određivanje genotipa pacijenata sa *HLA-B*570* aleлом i na osnovu toga

određivanje adekvatne terapije abakavirom umanjuje rizik od preosetljivosti izazvane ovim lekom (38). Meta – analiza iz 2015. godine je potvrdila ove rezultate (39).

Polimorfizmi u genima koji kodiraju transportere lekova

Transporteri lekova utiču na resorpciju, raspodelu i eliminaciju lekova tako što kontrolišu njihov ulazak i izlazak iz ćelije. Sve je više dokaza da polimorfizmi u genima koji kodiraju transportere lekova mogu imati ozbiljan uticaj na efikasnost i bezbednost leka.

Protein rezistencije raka dojke (*engl. breast cancer resistance protein, BCRP*) je ABC transporter (*ABCG2*) važan za intestinalnu resorpciju i bilijarno izlučivanje lekova, metabolita lekova i nekih toksičnih ksenobiotika (40). Varijanta *C421A ABCG2* gena dovodi do promene u BCRP (Gln141Lys) proteinu. Učestalost ove varijante je 30% do 60% kod Azijata, a 5% do 10% kod belaca i Afroamerikanaca. Bolesnici koji su heterozigotni nosioci ove varijante imaju 3 puta veće nivoe diflomotekana (antikancerski lek) u plazmi (41). Transporter *ABCG2* ima i važnu ulogu u dispoziciji rosuvastatina (statin). Pokazano je da *ABCG2 C421A* varijanta utiče na farmakokinetiku i terapijski efekat ovog leka u populaciji Kineza i belaca (42, 43). U ispitivanju u kojem je učestvovalo 305 kineskih pacijenata sa hiperolesterolemijom koji su lečeni rosuvastatinom u dozi od 10 mg na dan, *C421A* varijanta je bila dovedena u vezu sa većim smanjenjem nivoa LDL holesterola (44).

Zaključak

Klinički fenomeni od interesa za farmakogenetičko testiranje su izostanak terapijskog odgovora i pojava neželjenih reakcija. Baza farmakogenetičkih podataka (<https://www.pharmgkb.org/index.jsp>) danas ima vodiče za upotrebu 35 lekova. Upozorenje o neophodnosti realizacije genetičkog testa američka Agencija za lekove (*engl. U.S. Food and Drug Administration, FDA*) je uvrstila u sažetak karakteristika za 51 lek, dok se genetičko testiranje preporučuje za šest lekova. Varfarin, tramadol, atorvastatin, simvastatin, fenitoin, pantoprazol i metoklopramid neki su od lekova za koje je genetičko testiranje okarakterisano kao „izvodljivo” (45).

U oblasti farmakogenomike mnogo je izazovalo. Još uvek se ne zna dovoljno o uticaju gena na patogenezu nekih važnih oboljenja, na farmakodinamiku i farmakokinetiku leka, naročito kod kompleksnih oboljenja. Zatim, relacije između SNP-ova i drugih polimorfizama i kliničkih fenotipova terapijskog odgovora nisu uvek jasne i jednoznačne. Nema sumnje da će za dalji napredak biti neophodne velike prospektivne studije kako bi se procenila korist i isplativost genotipizacije i individualizovane medicine.

Literatura

1. Kalow W and Staron N. On distribution and inheritance of atypical forms of human serum cholinesterase, as indicated by dibucaine numbers. *Can J Biochem Physiol* 1957; 35:1305–1320.
2. Kalow W and Gunn DR. Some statistical data on atypical cholinesterase of human serum. *Ann Hum Genet* 1959; 23:239–250.
3. Evans DA, Manley KA, McKusick VA. Genetic control of isoniazid metabolism in man. *Br Med J* 1960; 2:485–491.
4. Vesell ES. Pharmacogenetic perspectives gained from twin and family studies. *Pharmacol Ther* 1989; 41:535–552.
5. Kalow W, Tang BK, Endrenyi L. Hypothesis: comparisons of inter- and intra-individual variations can substitute for twin studies in drug research. *Pharmacogenetics* 1998; 8:283–289.
6. Lu AY. Drug-metabolism research challenges in the new millennium: individual variability in drug therapy and drug safety. *Drug Metab Dispos* 1998; 26:1217–1222.
7. Meyer UA. Pharmacogenetics and adverse drug reactions. *Lancet* 2000; 356:1667–1671.
8. Evans WE and McLeod HL. Pharmacogenomics—drug disposition, drug targets, and side effects. *N Engl J Med* 2003; 348:538–549.
9. Weinshilboum R. Inheritance and drug response. *N Engl J Med* 2003; 348:529–537.
10. Evans WE and Relling MV. Moving towards individualized medicine with pharmacogenomics. *Nature* 2004; 429:464–468.
11. Eichelbaum M, Ingelman-Sundberg M, Evans WE. Pharmacogenomics and individualized drug therapy. *Annu Rev Med* 2006; 57:119–137.
12. Lin JH. Pharmacokinetic and pharmacodynamic variability: a daunting challenge in drug therapy. *Curr Drug Metab* 2007; 8:109–136.
13. Li T, Chang CY, Jin DY, Lin PJ, Khvorova A, and Stafford DW. Identification of the gene for vitamin K epoxide reductase. *Nature* 2004; 427:541–544.
14. Rost S, Fregin A, Ivaskevicius V, Conzelmann E, Hortnagel K, Pelz HJ et al. Mutations in VKORC1 cause warfarin resistance and multiple coagulation factor deficiency type 2. *Nature* 2004; 427:537–541.
15. Bodin L, Horellou MH, Flaujac C, Loriot MA, and Samama MM. A vitamin K epoxide reductase complex subunit-1 (VKORC1) mutation in a patient with vitamin K antagonist resistance. *J Thromb Haemost* 2005; 3:1533–1535.
16. Rieder MJ, Reiner AP, Gage BF, Nickerson DA, Eby CS, McLeod HL, et al. Effect of VKORC1 haplotypes on transcriptional regulation and warfarin dose. *N Engl J Med* 2005; 352:2285–2293.
17. Rettie AE and Tai G. The pharmacogenomics of warfarin: closing in on personalized medicine. *Mol Interv* 2006; 6:223–227.
18. Au N and Rettie AE. Pharmacogenomics of 4-hydroxycoumarin anticoagulants. *Drug Metab Rev* 2008; 40:355–375.
19. Schwarz UI and Stein CM. Genetic determinants of dose and clinical outcomes in patients receiving oral anticoagulants. *Clin Pharmacol Ther* 2006; 80:7–12.

20. Lima JJ, Thomason DB, Mohamed MH, Eberle LV, Self TH, and Johnson JA. Impact of genetic polymorphisms of the beta2-adrenergic receptor on albuterol bronchodilator pharmacodynamics. *Clin Pharmacol Ther* 1999; 65:519–525.
21. Dishy V, Sofowora GG, Xie HG, Kim RB, Byrne DW, Stein CM et al. The effect of common polymorphisms of the beta2-adrenergic receptor on agonistmediated vascular desensitization. *N Engl J Med* 2001; 345:1030–1035.
22. Ma Q, Lu AY. Pharmacogenetics, pharmacogenomics, and individualized medicine. *Pharmacol Rev.* 2011; 63(2):437-59.
23. Rakić A, Miljković B, Pokrajac M. Genetički polimorfizam izoenzima citohroma P450. *Arh farm* 2004; 54(1-2):61-76
24. Jin Y, Desta Z, Stearns V, Ward B, Ho H, Lee KH et al. CYP2D6 genotype, antidepressant use, and tamoxifen metabolism during adjuvant breast cancer treatment. *J Natl Cancer Inst* 2005; 97:30–39.
25. Borges S, Desta Z, Li L, Skaar TC, Ward BA, Nguyen A et al. Quantitative effect of CYP2D6 genotype and inhibitors on tamoxifen metabolism: implication for optimization of breast cancer treatment. *Clin Pharmacol Ther* 2006; 80:61–74.
26. Goetz MP, Rae JM, Suman VJ, Safgren SL, Ames MM, Visscher DW et al. Pharmacogenetics of tamoxifen biotransformation is associated with clinical outcomes of efficacy and hot flashes. *J Clin Oncol* 2005; 23:9312–9318.
27. Yazdi MF, Rafieian S, Gholi-Nataj M, Sheikhha MH, Nazari T, Neamatzadeh H. CYP2D6 Genotype and Risk of Recurrence in Tamoxifen Treated Breast Cancer Patients. *Asian Pac J Cancer Prev* 2015; 16(15): 6783-7.
28. Lee CR, Goldstein JA, and Pieper JA. Cytochrome P450 2C9 polymorphisms: a comprehensive review of the in-vitro and human data. *Pharmacogenetics* 2002; 12: 251–263.
29. Tabib A, Najibi B, Dalili M, Baghaei R, Poopak B. Enzyme Polymorphism in Warfarin Dose Management After Pediatric Cardiac Surgery. *Res Cardiovasc Med* 2015; 4(3): e27963.
30. Zhou SF, Di YM, Chan E, Du YM, Chow VD, Xue CC et al. Clinical pharmacogenetics and potential application in personalized medicine. *Curr Drug Metab* 2008; 9:738–784.
31. Katara P, Kuntal H. TPMT Polymorphism: When Shield Becomes Weakness. *Interdiscip Sci* 2015. [Epub ahead of print]
32. Kotur N, Stankovic B, Kassela K, Georgitsi M, Vicha A, Leontari I et al. 6-mercaptopurine influences TPMT gene transcription in a TPMT gene promoter variable number of tandem repeats-dependent manner. *Pharmacogenomics* 2012;13(3):283-95.
33. Tukey RH, Strassburg CP, and Mackenzie PI. Pharmacogenomics of human UDP-glucuronosyltransferases and irinotecan toxicity. *Mol Pharmacol* 2002; 62:446–450.
34. Kadakol A, Ghosh SS, Sappal BS, Sharma G, Chowdhury JR, and Chowdhury NR. Genetic lesions of bilirubin uridine-diphosphoglucuronate glucuronosyltransferase (UGT1A1) causing Crigler-Najjar and Gilbert syndromes: correlation of genotype to phenotype. *Hum Mutat* 2000; 16:297–306.

35. Zhang D, Zhang D, Cui D, Gambardella J, Ma L, Barros A et al. Characterization of the UDP glucuronosyltransferase activity of human liver microsomes genotyped for the UGT1A1*28 polymorphism. *Drug Metab Dispos* 2007; 35:2270–2280.
36. Mallal S, Nolan D, Witt C, Masel G, Martin AM, Moore C et al. Association between presence of HLA-B*5701, HLA-DR7, and HLA-DQ3 and hypersensitivity to HIV-1 reverse-transcriptase inhibitor abacavir. *Lancet* 2002; 359:727–732.
37. Martin AM, Nolan D, Gaudieri S, Almeida CA, Nolan R, James I et al. Predisposition to abacavir hypersensitivity conferred by HLA-B*5701 and a haplotypic Hsp70-Hom variant. *Proc Natl Acad Sci USA* 2004; 101:4180–4185.
38. Mallal S, Phillips E, Carosi G, Molina JM, Workman C, Tomazic J et al. HLA-B*5701 screening for hypersensitivity to abacavir. *N Engl J Med* 2008; 358:568–579.
39. Tangamornsuksan W, Lohitnavy O, Kongkaew C, Chaiyakunapruk N, Reisfeld B, Scholfield NC et al. Association of HLA-B*5701 genotypes and abacavir-induced hypersensitivity reaction: a systematic review and meta-analysis. *J Pharm Pharm Sci* 2015; 18(1):68–76.
40. Gradhand U and Kim RB. Pharmacogenomics of MRP transporters (ABCC1–5) and BCRP (ABCG2). *Drug Metab Rev* 2008; 40:317–354.
41. Sparreboom A, Gelderblom H, Marsh S, Ahluwalia R, Obach R, Principe P et al. Diflomotecan pharmacokinetics in relation to ABCG2 421C>A genotype. *Clin Pharmacol Ther* 2004; 76:38–44.
42. Zhang W, Yu BN, He YJ, Fan L, Li Q, Liu ZQ et al. Role of BCRP 421C>A polymorphism on rosuvastatin pharmacokinetics in healthy Chinese males. *Clin Chim Acta* 2006; 373:99–103.
43. Keskitalo JE, Zolk O, Fromm MF, Kurkinen KJ, Neuvonen PJ, and Niemi M. ABCG2 polymorphism markedly affects the pharmacokinetics of atorvastatin and rosuvastatin. *Clin Pharmacol Ther* 2009; 86:197–203.
44. Tomlinson B, Hu M, Lee VW, Lui SS, Chu TT, Poon EW et al. ABCG2 polymorphism is associated with the low-density lipoprotein cholesterol response to rosuvastatin. *Clin Pharmacol Ther* 2010; 87:558–562.
45. PharmGKB. Dostupno na: <https://www.pharmgkb.org/view/drug-labels.do>.

Pharmacogenetics and pharmacogenomics - the impact of the single nucleotide polymorphisms in drug response

Ivan Jančić*, Nevena Arsenović Ranin

Belgrade University – Faculty of Pharmacy, Department of Microbiology and Immunology, Vojvode Stepe 450, 11221 Belgrade, Serbia

*Correspondence to: e-mail ijancic@pharmacy.bg.ac.rs (Tel: +381 11 3951207)

Summary

Individual variation in response to drugs is an important clinical problem, which ranges from failure to respond to the drug, over adverse reactions to drugs, to interactions among drugs being administered concurrently. Numerous findings indicate that the differences in the patients response on the same drug are caused by genetic variations. This is the subject of pharmacogenetics. Although pharmacogenetics generally equated with the concept of pharmacogenomics, pharmacogenetics is primarily related to variations in a single gene that influence the on drug response, while pharmacogenomics is a broader term, which studies how all of the genes (the genome) can influence responses to drugs. In focus of this paper will be individual variation in response to drugs arising from single nucleotide polymorphisms in genes encoding the drug target proteins, enzymes that metabolize drugs, drug transporters, and polymorphisms of genes responsible for toxicity and hypersensitivity to drugs. Determination of pharmacogenetic profile of patients could point out patients who are at increased risk of adverse drug effects (for which drug should be applied at lower doses or other drugs can be used) and those in which are likely to achieve the desired therapeutic effect, and so to enable individualization of therapy.

Keywords: Individual variability in drug response, pharmacogenomics, pharmacogenetics, polymorphisms, individualized therapy

Prilozi – Contributions

SPISAK RECENZENATA RADOVA objavljenih u Arhivu za farmaciju u 2015. godini

Ime i prezime recenzenta	Ustanova
Dr sci. Aleksandra Đurđević	Agencija za lekove i medicinska sredstva Srbije
Doc. dr Aleksandra Jović-Vraneš	Univerzitet u Beogradu – Medicinski fakultet
Dr sci. Ana Micov	Univerzitet u Beogradu – Farmaceutski fakultet
Dr Aleksandra Novaković, vanredni profesor	Univerzitet u Beogradu – Farmaceutski fakultet
Prof. dr Ana Sabo	Univerzitet u Novom Sadu – Medicinski fakultet
Prof. dr Biljana Antonijević	Univerzitet u Beogradu – Farmaceutski fakultet
Prof. dr Branislava Miljković	Univerzitet u Beogradu – Farmaceutski fakultet
Dr sci. Branka Zukić, viši naučni saradnik	Institut za molekularnu genetiku i genetičko inženjerstvo, Univerzitet u Beogradu
Doc. dr Dragana Lakić	Univerzitet u Beogradu – Farmaceutski fakultet
Doc. dr Dušanka Krajnović	Univerzitet u Beogradu – Farmaceutski fakultet
Prof. dr Gordana Leposavić	Univerzitet u Beogradu – Farmaceutski fakultet
Prof. dr Guenka Petrova	Faculty of Pharmacy, Medical University, Sofia, Bulgaria
Prof. dr Igor Kuzmanovski	Faculty of Natural Sciences and Mathematics, Institute of Chemistry, University of Skopje, Macedonia
Prof. dr Jela Milić	Univerzitet u Beogradu – Farmaceutski fakultet
Prof. dr Jelena Drulović	Univerzitet u Beogradu – Medicinski fakultet

Ime i prezime recenzenta	Ustanova
Dr Jelena Kotur- Stevuljević, vanredni profesor	Univerzitet u Beogradu – Farmaceutski fakultet
Prof. dr Julijana Kristl	University of Ljubljana – Faculty of Pharmacy
Doc. dr Katarina Vučićević	Univerzitet u Beogradu – Farmaceutski fakultet
Prim. dr sci. Lidija Memon	KBC Bežanijska kosa
Prof. dr Ljiljana Tasić	Univerzitet u Beogradu – Farmaceutski fakultet
Dr Maja Tomić, vanredni profesor	Univerzitet u Beogradu – Farmaceutski fakultet
Prof. dr Milan Jokanović	Univerzitet u Nišu – Medicinski fakultet
Dr Milan Senčanski, naučni saradnik	Centar za multidisciplinarna istraživanja i inženjeringu, Institut za nuklearne nauke „Vinča“
Prof. dr Milorad Pavlović	Univerzitet u Beogradu – Medicinski fakultet
Prof. dr Mire Zloh	University of Hertfordshire, Hatfield, United Kingdom
Prof. dr Nada Kovačević	Univerzitet u Beogradu – Farmaceutski fakultet
Dr Nataša Bogavac-Stanojević, vanredni profesor	Univerzitet u Beogradu – Farmaceutski fakultet
Dr sci. Nina Dragičević-Ćurić, naučni saradnik	Apoteka “Beograd”, Beograd
Prof. dr Radovan Čekanac	Univerzitet odbrane – Medicinski fakultet Vojnomedicinske akademije u Beogradu
Prof. dr Silva Dobrić	Univerzitet odbrane – Medicinski fakultet Vojnomedicinske akademije u Beogradu
Doc. dr Slavica Filipić	Univerzitet u Beogradu – Farmaceutski fakultet
Prof. dr Slavica Vučinić	Univerzitet odbrane – Medicinski fakultet Vojnomedicinske akademije u Beogradu
Dr Snežana Savić, vanredni profesor	Univerzitet u Beogradu – Farmaceutski fakultet
Prof. dr Snežana Simić	Univerzitet u Beogradu – Medicinski fakultet
Prof. dr Slobodanka Tamburić	London College of Fashion, University of the Arts, London, United Kingdom

Ime i prezime recenzenta	Ustanova
Prof. dr Svjetlana Stoisavljević-Šatara	Univerzitet u Banjoj Luci – Medicinski fakultet, Republika Srpska
Dr sci. Tijana Miletić	Hemofarm a.d., Vršac
Prof. dr Vesela Radonjić	Agencija za lekove i medicinska sredstva Srbije
Prof. dr Zdenko Tomić	Univerzitet u Novom Sadu – Medicinski fakultet
Prof. dr Zorica Đurić	Univerzitet u Beogradu – Farmaceutski fakultet
Prof. dr Zorica Stojić-Vukanić	Univerzitet u Beogradu – Farmaceutski fakultet

Najsrdačnije se zahvaljujemo svim recenzentima

Obaveštenja

U toku 2015. godine na Univerzitetu u Beogradu - Farmaceutskom fakultetu odbranjeno je:

- 383 diplomskih/završnih radova
- 23 doktorske disertacije
- 21 specijalističkih radova na specijalističkim studijama zdravstvenih radnika i zdravstvenih saradnika
- 143 kandidata završilo je specijalističke akademske studije

Svima čestitamo i želimo puno uspeha u budućem radu!

Spisak studenata koji su završili diplomske osnovne studije na Univerzitetu u Beogradu – Farmaceutskom fakultetu u 2015. godini

1. Munižaba (Miroslav) Marko	16.01.2015.
2. Kostić (Ilija) Kristina	22.01.2015.
3. Lazarević (Mića) Vojin	30.01.2015.
4. Rađenović (Milan) Bojana	30.01.2015.
5. Jovanović (Dragan) Jovana	30.01.2015.
6. Petrović (Srbislav) Jelena	04.02.2015.
7. Lazić (Veljko) Matija	09.02.2015.
8. Petrović (Dragoljub) Dragana	12.02.2015.
9. Kešetović (Nenad) Jelena	18.02.2015.
10. Kražić (Miomir) Dušan	19.02.2015.
11. Duni (Nikola) Marija	24.02.2015.
12. Nikolić (Cvjetko) Marina	26.02.2015.
13. Vasić (Dušan) Biljana	27.02.2015.
14. Jakovljević (Vladimir) Nebojša	02.03.2015.
15. Mihailović (Vojislav) Aleksandar	03.03.2015.
16. Đorđević (Dragan) Brankica	13.03.2015.
17. Stančić (Božidar) Neda	20.03.2015.
18. Čebedžić (Rajko) Dušan	24.03.2015.
19. Nićiforović (Dragan) Katarina	31.03.2015.
20. Stojlković (Jovica) Miloš	01.04.2015.
21. Bogdanović (Stanoje) Jelena	03.04.2015.
22. Mijailović (Mirko) Maja	03.04.2015.
23. Bugarin (Danilo) Jelena	07.04.2015.
24. Lisica (Drago) Dušica	09.04.2015.
25. Živković (Miroslav) Natalija	22.04.2015.
26. Antonić (Mile) Maja	23.04.2015.
27. Lazarević (Zoran) Marija	30.04.2015.
28. Marinković (Nikola) Tatjana	19.05.2015.
29. Rabrenović (Zoran) Miloš	19.05.2015.

30. Vušović (Miloš) Tatjana	19.05.2015.
31. Rakić (Dragan) Marko	20.05.2015.
32. Jaić (Rade) Tatjana	22.05.2015.
33. Milovanović (Milan) Milica	27.05.2015.
34. Miladinović (Đorđe) Danijela	01.06.2015.
35. Mecić (Zoran) Marija	03.06.2015.
36. Spasić (Momčilo) Aleksandra	10.06.2015.
37. Radosavljević (Radovan) Milena	10.06.2015.
38. Stojanović (Predrag) Pavle	22.06.2015.
39. Selak (Mladen) Darjana	22.06.2015.
40. Jovanović (Mileta) Kristina	03.07.2015.
41. Jevremović (Ivan) Milena	07.07.2015.
42. Stevlić (Živorad) Željko	08.07.2015.
43. Nešković (Slavoljub) Marija	09.07.2015.
44. Jovanović (Dragan) Dragana	10.07.2015.
45. Grdinić (Ćiro) Marijana	10.07.2015.
46. Jović (Miomir) Ana	13.07.2015.
47. Jelisavčić (Svetislav) Aleksandra	13.07.2015.
48. Milenković (Milorad) Marija	14.07.2015.
49. Krušić (Gojko) Anda	15.07.2015.
50. Cvetković (Predrag) Ivana	17.07.2015.
51. Ninković (Aleksa) Olivera	20.07.2015.
52. Blagojević (Zoran) Jelena	22.07.2015.
53. Vujnović (Zdravko) Larisa	29.07.2015.
54. Savin (Đura) Jasmina	11.09.2015.
55. Šumanović (Dejan) Damjan	19.10.2015.
56. Krsmanović (Milinko) Ivana	22.10.2015.
57. Škobić (Stojan) Jelena	28.10.2015.
58. Jovanović (Aleksa) Marija	30.10.2015.
59. Kondić (Nebojša) Jelena	30.10.2015.
60. Skočo (Slobodan) Dejana	30.10.2015.
61. Spasović (Miroslav) Milena	06.11.2015.
62. Beronja (Bojan) Milica	12.11.2015.

63. Bjelica (Njegoslav) Jelena	20.11.2015.
64. Vuković (Dragan) Miloš	23.11.2015.
65. Smiljanić (Milorad) Mila	10.12.2015.
66. Aleksić (Branimir) Katarina	15.12.2015.
67. Radić (Miroslav) Bojana	16.12.2015.
68. Milkić (Žarko) Ivana	25.12.2015.
69. Stojković (Slobodan) Ana	29.12.2015.
70. Biljić (Slobodan) Bojana	29.12.2015.
71. Marunić (Dragomir) Milanka	30.12.2015.
72. Simeunović (Borisav) Vida	30.12.2015.

Spisak studenata koji su završili integrisane akademske studije na Univerzitetu u Beogradu – Farmaceutskom fakultetu u 2015. godini

1. Nikolić (Vladimir) Irena	27.01.2015.
2. Popović (Miroslav) Miljana	12.02.2015.
3. Tamindžić (Vladimir) Tina	13.02.2015.
4. Milovanović (Radovan) Ivana	13.02.2015.
5. Petrović (Miodrag) Ognjen	18.02.2015.
6. Derajić (Momir) Jovana	20.02.2015.
7. Agbaba (Braca) Stevan	20.02.2015.
8. Jezdimirović (Mirko) Jelena	23.02.2015.
9. Andžić (Dragivoje) Ana	23.02.2015.
10. Eskić (Gojko) Nevena	25.02.2015.
11. Novaković (Radovan) Danijela	26.02.2015.
12. Milenković (Zoran) Nikola	26.02.2015.
13. Vuletić (Vojkan) Ana	27.02.2015.
14. Milenković (Dragan) Tanja	27.02.2015.
15. Ilić (Stanimir) Marija	02.03.2015.
16. Topalović (Predrag) Maja	03.03.2015.
17. Stančić (Boško) Mila	06.03.2015.
18. Tanasković (Miodrag) Milica	06.03.2015.
19. Stanković (Petar) Bojana	10.03.2015.
20. Nikolić (Jasmina) Milena	11.03.2015.
21. Milić (Miodrag) Katarina	11.03.2015.
22. Dražić (Dragan) Martina	12.03.2015.
23. Gligorov (Slavčo) Tanja	13.03.2015.
24. Popović (Vojislav) Rajka	13.03.2015.
25. Milošević (Nada) Ana	13.03.2015.
26. Gačić (Miloje) Jelena	16.03.2015.
27. Joksimović (Prokopije) Sanda	16.03.2015.
28. Lazarević (Miodrag) Dunja	17.03.2015.

29. Kačarević (Dragan) Dragana	17.03.2015.
30. Radonjić (Milivoje) Miljana	18.03.2015.
31. Žunić (Velibor) Ana	19.03.2015.
32. Gudelj (Lazar) Tatjana	19.03.2015.
33. Peković (Dragan) Ana	20.03.2015.
34. Ilić (Milutin) Janko	20.03.2015.
35. Stefanović (Milutin) Milica	20.03.2015.
36. Radulović (Nebojša) Milica	24.03.2015.
37. Mitev (Todor) Darko	24.03.2015.
38. Radojević (Bojan) Aleksandra	24.03.2015.
39. Garović (Ljubinko) Ksenija	26.03.2015.
40. Naumović (Selami) Nađa	27.03.2015.
41. Sorinkanović (Srđan) Sanja	27.03.2015.
42. Milosavljević-Tomić (Aca) Snežana	30.03.2015.
43. Grbić (Nenad) Mirna	01.04.2015.
44. Maksimović (Siniša) Ana	03.04.2015.
45. Čorić (David) Tanja	03.04.2015.
46. Miletić (Snežana) Kristina	03.04.2015.
47. Božić (Bogdan) Ruža	03.04.2015.
48. Arsenović (Darko) Nevena	06.04.2015.
49. Janković (Dragan) Dušica	06.04.2015.
50. Savković (Slavko) Ana	06.04.2015.
51. Pantelić (Zoran) Jovana	07.04.2015.
52. Krivokapić (Toma) Bojana	08.04.2015.
53. Kara (Nikola) Marijana	09.04.2015.
54. Petrović (Zoran) Kristina	09.04.2015.
55. Dojčinović (Aleksandar) Anastasija	17.04.2015.
56. Manić (Predrag) Maja	21.04.2015.
57. Stoilković (Borivoje) Kristina	21.04.2015.
58. Pešić (Dragoljub) Aleksandra	22.04.2015.
59. Ostojić (Miloljub) Snežana	22.04.2015.
60. Antić (Stanimir) Vesna	23.04.2015.
61. Stojić (Radomir) Jovana	24.04.2015.

62. Milakov (Miodrag) Tijana	24.04.2015.
63. Lazarević (Zoran) Nevena	24.04.2015.
64. Pešić (Mića) Jelena	29.04.2015.
65. Marković (Miloš) Đurđa	30.04.2015.
66. Stojanović (Siniša) Jelena	30.04.2015.
67. Dželetović (Nebojša) Bojana	30.04.2015.
68. Andđelković (Vesko) Marija	05.05.2015.
69. Jovanović (Ljubiša) Mirjana	06.05.2015.
70. Antov (Stevčo) Ana	08.05.2015.
71. Gagić (Dobrica) Milica	08.05.2015.
72. Milić (Slobodan) Bojana	11.05.2015.
73. Jovanović (Predrag) Jovana	14.05.2015.
74. Ostojić (Borislav) Uglješa	14.05.2015.
75. Radović (Sreten) Jelena	15.05.2015.
76. Denčić (Rajko) Ivana	18.05.2015.
77. Živković (Dragiša) Milica	19.05.2015.
78. Stamenković (Miodrag) Jelena	20.05.2015.
79. Negovanović (Dragan) Aleksandra	25.05.2015.
80. Zilkić (Bajram) Lejla	27.05.2015.
81. Belić (Dragoljub) Milica	28.05.2015.
82. Vasović (Zoran) Marko	01.06.2015.
83. Svojić (Slobodan) Violeta	02.06.2015.
84. Jovanović (Branko) Jelena	03.06.2015.
85. Jovanović (Slobodan) Jovana	05.06.2015.
86. Putić (Ljubomir) Gordana	10.06.2015.
87. Krčobić (Zoran) Miljan	10.06.2015.
88. Tašković (Srđan) Ivana	12.06.2015.
89. Milenković (Goran) Suzana	15.06.2015.
90. Đenić (Jovan) Hristina	18.06.2015.
91. Vesić (Zoran) Jovana	22.06.2015.
92. Stanišić (Danko) Mirjana	29.06.2015.
93. Milovanović (Mirčeta) Sanja	29.06.2015.
94. Ćitić (Dragomir) Katarina	01.07.2015.

95. Kovačević (Dragan) Katarina	03.07.2015.
96. Nikolić (Nebojša) Ines	06.07.2015.
97. Fuks (Laslo) Leontina	06.07.2015.
98. Popović (Zvezdan) Jovana	06.07.2015.
99. Jović (Ivan) Dimitrije	06.07.2015.
100. Milanović (Miodrag) Jelena	06.07.2015.
101. Cvetković (Zoran) Miloš	07.07.2015.
102. Radovanović (Ilija) Branislava	07.07.2015.
103. Mišić (Aleksandar) Milena	07.07.2015.
104. Dimić (Nebojša) Nemanja	09.07.2015.
105. Šišović (Miodrag) Tijana	10.07.2015.
106. Zlatković (Dragan) Maja	13.07.2015.
107. Dobrosavljević (Dragoljub) Aleksandra	14.07.2015.
108. Gavrilov (Čedomir) Jelena	14.07.2015.
109. Pajević (Milun) Marica	14.07.2015.
110. Serdar (Ljiljana) Ivana	15.07.2015.
111. Nedeljković (Nedeljko) Slobodan	15.07.2015.
112. Milinković (Mladen) Srđan	16.07.2015.
113. Planić (Dragan) Stefan	16.07.2015.
114. Mišković (Nikola) Danijela	17.07.2015.
115. Vinš (Velizar) Vanja	17.07.2015.
116. Savić (Radivoje) Aleksandra	17.07.2015.
117. Šaponjić (Milisav) Milica	17.07.2015.
118. Jović (Žarko) Srna	17.07.2015.
119. Matić (Milan) Jelena	17.07.2015.
120. Manojlović (Stanimir) Grozdana	17.07.2015.
121. Jović (Radislav) Milica	17.07.2015.
122. Bogavac (Milenko) Ana	20.07.2015.
123. Filipović (Vladan) Dubravka	20.07.2015.
124. Bukvić (Srđan) Nikola	21.07.2015.
125. Dumanović (Zlatan) Jelena	21.07.2015.
126. Jonić (Mile) Aleksandra	22.07.2015.
127. Vučković (Miodrag) Marko	23.07.2015.

128. Krunić (Milorad) Jelena	23.07.2015.
129. Milanović (Živorad) Milena	23.07.2015.
130. Ćemalović (Zoran) Zoran	23.07.2015.
131. Nikolić (Novica) Dobrinka	24.07.2015.
132. Draganov (Rade) Ivana	24.07.2015.
133. Marković (Dragan) Dragana	24.07.2015.
134. Vasić (Predrag) Jelena	24.07.2015.
135. Milojević (Leso) Milan	29.07.2015.
136. Žunić (Radoš) Jelena	31.07.2015.
137. Novković (Mile) Jelena	26.08.2015.
138. Todorović (Vladan) Milena	27.08.2015.
139. Vojinović (Dragan) Jelena	28.08.2015.
140. Ljubojević (Goran) Nina	28.08.2015.
141. Živković (Jovica) Aleksandra	29.08.2015.
142. Oluić (Nikola) Jelena	31.08.2015.
143. Nešić (Slobodan) Tijana	02.09.2015.
144. Vasić (Svetislav) Katarina	02.09.2015.
145. Aleksandrović (Desimir) Milena	02.09.2015.
146. Vasiljević (Radule) Bojana	04.09.2015.
147. Jovanović (Nebojša) Nikola	04.09.2015.
148. Đukić (Slavica) Miloš	04.09.2015.
149. Ljubičić (Ivan) Andrea	07.09.2015.
150. Perić (Predrag) Martina	08.09.2015.
151. Vasović (Milan) Marijana	09.09.2015.
152. Vukas (Radenko) Jelena	09.09.2015.
153. Sindžirević (Rajka) Ivana	10.09.2015.
154. Jugović (Boško) Nikola	10.09.2015.
155. Tenkeš (Dragan) Dragana	11.09.2015.
156. Janković (Zoran) Ružica	11.09.2015.
157. Trifunović (Miomir) Duško	11.09.2015.
158. Savić (Milan) Vida	14.09.2015.
159. Ignjatović (Branislav) Nikola	15.09.2015.
160. Dobrosavljević (Dragan) Ana	15.09.2015.

161. Drndarević (Miroslav) Aneta	15.09.2015.
162. Perov (Ivona) Vilijan	16.09.2015.
163. Petković (Dragoljub) Vasilisa	16.09.2015.
164. Šupljevlav (Željko) Branislava	17.09.2015.
165. Petruševski (Đorđe) Tamara	18.09.2015.
166. Raičević (Goran) Ivana	18.09.2015.
167. Ivanović (Predrag) Ivana	18.09.2015.
168. Ivanović (Predrag) Milica	18.09.2015.
169. Vukadinović (Vesna) Danica	21.09.2015.
170. Šoštar (Milica) Jelena	22.09.2015.
171. Pavlov (Branko) Branka	23.09.2015.
172. Filipović (Zoran) Marina	23.09.2015.
173. Zdravković (Časlav) Nina	23.09.2015.
174. Ramić (Aleksandra) Ena	23.09.2015.
175. Cako (Šandor) Kristian	24.09.2015.
176. Obradović (Ljiljana) Darija	24.09.2015.
177. Perić (Dragan) Jovana	25.09.2015.
178. Janković (Bogoljub) Nikola	25.09.2015.
179. Ćeha (Radoš) Marko	25.09.2015.
180. Krivokapić (Zdravko) Miloš	25.09.2015.
181. Šikora (Ivan) Ana	25.09.2015.
182. Radojević (Nenad) Marija	25.09.2015.
183 .Nikolić (Neško) Marija	25.09.2015.
184. Andrejević (Miodrag) Tamara	25.09.2015.
185. Lukić (Nebojša) Jelena	25.09.2015.
186. Milenković (Miroslav) Jasmina	25.09.2015.
187. Spasojević (Milenko) Jovana	28.09.2015.
188. Preskakulev (Zlatko) Jelena	28.09.2015.
189. Jašćur (Zvonko) Vladimir	28.09.2015.
190. Jovanović (Dragiša) Miloš	28.09.2015.
191. Tatović (Gordana) Simona	28.09.2015.
192. Ćirić (Radovan) Ana	28.09.2015.
193. Ilić (Zoran) Marija	28.09.2015.

194. Bojičić (Slavoljub) Anita	28.09.2015.
195. Koprivica (Matije) Dejana	28.09.2015.
196. Jeremić (Goran) Aleksandra	28.09.2015.
197. Đorđević (Novica) Katarina	28.09.2015.
198. Stojanović (Milan) Marija	29.09.2015.
199. Stevanović (Vladan) Milena	29.09.2015.
200. Lazić (Radovan) Sonja	29.09.2015.
201. Grujanić (Božo) Vesna	29.09.2015.
202. Marinković (Slobodan) Bojana	29.09.2015.
203. Dokić (Dragomir) Stanislava	29.09.2015.
204. Baralić (Velibor) Katarina	29.09.2015.
205. Batoćanin (Danica) Katarina	29.09.2015.
206. Milovanović (Vladan) Gorica	29.09.2015.
207. Luković (Momčilo) Jovana	30.09.2015.
208. Bogdanović (Marko) Nemanja	30.09.2015.
209. Leontijević (Tomislav) Milica	30.09.2015.
210. Milović (Radivoje) Bojana	30.09.2015.
211. Matković (Željko) Jelena	30.09.2015.
212. Milutinović (Branislav) Aleksandra	30.09.2015.
213. Živanić (Slobodan) Marija	30.09.2015.
214. Novković (Zoran) Ana	30.09.2015.
215. Šarenac (Perica) Nataša	30.09.2015.
216. Baranac (Milan) Dragana	30.09.2015.
217. Stanković (Svetislav) Milica	30.09.2015.
218. Trajković (Srđan) Oliver	30.09.2015.
219. Lekić (Željko) Dunja	30.09.2015.
220. Bjelić (Vladan) Ivana	30.09.2015.
221. Stijović (Milivoje) Ivana	30.09.2015.
222. Mandić (Milutin) Anđelka	30.09.2015.
223. Milojević (Slaviša) Gordana	30.09.2015.
224. Simeunović (Zoran) Sladana	01.10.2015.
225. Stojković (Petar) Marijana	01.10.2015.
226. Tomašević (Radosav) Sunčica	01.10.2015.

227. Đurić (Siniša) Saša	01.10.2015.
228. Čolaković (Radomir) Miloš	02.10.2015.
229. Pavlovski (Vladan) Dragana	02.10.2015.
230. Đoković (Blagomir) Jelena	02.10.2015.
231. Burzan (Dragan) Nikola	02.10.2015.
232. Ranković (Vladan) Slađana	05.10.2015.
233. Paunović (Milija) Nikola	05.10.2015.
234. Vidojević (Vladan) Aleksandra	05.10.2015.
235. Milošević (Gordana) Katarina	05.10.2015.
236. Anđelović (Stojadin) Milica	05.10.2015.
237. Vesković (Zoran) Nenad	05.10.2015.
238. Petrović (Dragan) Nevena	05.10.2015.
239. Marjanović (Milan) Miloš	05.10.2015.
240. Slavković (Milisav) Marija	05.10.2015.
241. Lazović (Zoran) Marija	05.10.2015.
242. Dragić (Nikola) Marija	06.10.2015.
243. Kostić (Perica) Miloš	06.10.2015.
244. Ilić (Milostija) Nevena	07.10.2015.
245. Milivojević (Zoran) Biljana	07.10.2015.
246. Tomić (Dejan) Neda	08.10.2015.
247. Krsteski (Goce) Elena	08.10.2015.
248. Perišić (Dragan) Nevena	08.10.2015.
249. Krčmar (Žarko) Ivana	08.10.2015.
250. Stojadinović (Nebojša) Milica	08.10.2015.
251. Taslaković (Zoran) Maja	08.10.2015.
252. Krezović (Veljko) Slađana	08.10.2015.
253. Gigić (Milan) Katarina	09.10.2015.
254. Jović (Branko) Vanja	09.10.2015.
255. Rakić (Radivoj) Dragana	09.10.2015.
256. Rakić (Dragan) Anđela	09.10.2015.
257. Jovičić (Zoran) Sanja	09.10.2015.
258. Raičević (Dejan) Marija	09.10.2015.
259. Ristić (Nemanja) Milica	09.10.2015.

260. Nikolić (Tihomir) Ivana	09.10.2015.
261. Vuković (Ivan) Ivana	09.10.2015.
262. Polimac (Selim) Sara	09.10.2015.
263. Sekulić (Miljojko) Isidora	09.10.2015.
264. Mlađenović (Dragan) Katarina	09.10.2015.
265. Nikšić (Petar) Nemanja	09.10.2015.
266. Vukša (Đuro) Tatjana	09.10.2015.
267. Jovanović (Milosav) Valentina	09.10.2015.
268. Veselinović (Nebojša) Tamara	10.10.2015.
269. Vujnović (Biljana) Jovana	14.10.2015.
270. Sanader (Dražen) Maša	20.10.2015.
271. Živković (Radoslav) Jovana	29.10.2015.
272. Beloševac (Branislav) Katarina	29.10.2015.
273. Bogdanović (Dragan) Maja	30.10.2015.
274. Aleksić (Vojislav) Marija	04.11.2015.
275. Rovčanin (Mikica) Milijana	06.11.2015.
276. Nikolić (Danijela) Lidija	09.11.2015.
277. Popović (Ranko) Ivana	10.11.2015.
278. Vasić (Mirko) Marijana	10.11.2015.
279. Čubrilo (Željko) Svetlana	12.11.2015.
280. Krstić (Radmilo) Jovana	12.11.2015.
281. Andđelković (Božidar) Miloš	17.11.2015.
282. Bojović (Đurko) Jelena	17.11.2015.
283. Jovanović (Živan) Dragana	23.11.2015.
284. Čeliković (Radoš) Danijela	23.11.2015.
285. Soskić (Tomislav) Jelena	25.11.2015.
286. Mandić (Čedomir) Bojana	26.11.2015.
287. Čubrilo (Dušan) Marija	27.11.2015.
288. Krtolica (Radomir) Ivana	27.11.2015.
289. Petronijević (Milan) Jelena	30.11.2015.
290. Miloš (Marko) Jovana	02.12.2015.
291. Đorđević (Slobodan) Stefan	03.12.2015.
292. Pašić (Milorad) Marta	03.12.2015.

293. Stojković (Slavko) Miloš	04.12.2015.
294. Stojanović (Živojin) Dušan	07.12.2015.
295. Šerer (Goran) Miloš	14.12.2015.
296. Kresović (Siniša) Ivana	18.12.2015.
297. Stanković (Zoran) Zorana	21.12.2015.
298. Marković (Mirko) Srđan	21.12.2015.
299. Glavčić (Radiša) Mirjana	21.12.2015.
300. Pavlović (Zoran) Anđela	21.12.2015.
301. Stošić (Zoran) Jovana	21.12.2015.
302. Šakotić (Violeta) Andrijana	22.12.2015.
303. Ristanović (Zorica) Jovana	25.12.2015.
304. Atanasković (Mirjana) Milica	25.12.2015.
305. Vujić (Ivan) Nevena	25.12.2015.
306. Stanojević (Marina) Selena	29.12.2015.
307. Ćuković (Budimir) Srđan	29.12.2015.
308. Jevtić (Momčilo) Katarina	29.12.2015.
309. Perović (Mališa) Milica	30.12.2015.
310. Stojanović (Dragan) Milena	30.12.2015.
311. Radoičić (Božidar) Maja	30.12.2015.

Spisak studenata koji su završili specijalizaciju zdravstvenih radnika i zdravstvenih saradnika na Univerzitetu u Beogradu – Farmaceutskom fakultetu u 2015. godini

1. Medicinska biohemija

- 1) **Kandidat:** Stjepanović Željka
Naziv teme: „Poređenje vrednosti CA 125, HE 4 i ROMA kod pacijentkinja sa benignim i malignim tumorima jajnika”
Mentor: prof.dr Svetlana Ignjatović, rad odbranjen 06.03.2015.

- 2) **Kandidat:** Pijanović Marina
Naziv teme: „Promene parametara lipidnog statusa i insulinske rezistencije u toku trudnoće”
Mentor: prof.dr Zorana Jelić-Ivanović, rad odbranjen 21.09.2015.

2. Farmakoterapija

- 1) **Kandidat:** Kljajić Nikolina
Naziv teme: „Farmakoterapija primarnih glavobolja”
Mentor: prof.dr Radica Stepanović-Petrović, rad odbranjen 17.03.2015.

- 2) **Kandidat:** Kostić Ivana
Naziv teme: „Uloga probiotika u eradicaciji Helicobacter Pilory”
Mentor: prof. dr Aleksandra Novaković, rad odbranjen 19.05.2015.

3. Farmaceutska tehnologija

- 1) **Kandidat:** Stanković Slobodan
Naziv teme: „Pristup formulaciji mekih i tvrdih kapsula”
Mentor: prof. dr Svetlana Ibrić, rad odbranjen 04.02.2015.

- 2) **Kandidat:** Kolundžija Olivera
Naziv teme: „Magistralni lekovi-zahtevi za izradu i primeri iz prakse”
Mentor: prof. dr Zorica Đurić, rad odbranjen 09.04.2015.

- 3) **Kandidat:** Baroš Vladimir
Naziv teme: „Pregled karakteristika savremenih uređaja za mešanje polučvrstih farmaceutskih preparata”
Mentor: prof. dr Jelena Paročić, rad odbranjen 12.05.2015.
- 4) **Kandidat:** Arsić Ivana
Naziv teme: „Preparati sa uljanim ekstraktima herbe kantariona: formulacija, ispitivanje stabilnosti i efikasnosti”
Mentor: prof. dr Marija Primorac, rad odbranjen 26.05.2015.
- 5) **Kandidat:** Cvijić Sandra
Naziv teme: „Primena in silico metoda biofarmaceutske karakterizacije u razvoju farmaceutskih preparta za oralnu primenu”
Mentor: prof.dr Svetlana Ibrić, rad odbranjen 02.06.2015.
- 6) **Kandidat:** Gojković Milena
Naziv teme: „Filmovi za rane na bazi kompleksa hitozana-izrada i in vitro karakterizacija”
Mentor: prof.dr Gordana Vuleta, rad odbranjen 06.07.2015.
- 7) **Kandidat:** Obradović Nikola
Naziv teme: „Razvoj formulacija tvrdih kapsula za izradu u laboratorijskim uslovima upotrebom poluautomatskog uređaja za punjenje kapsula”
Mentor: prof.dr Zorica Đurić, rad odbranjen 29.12.2015.

4. Ispitivanje i kontrola lekova

- 1) **Kandidat:** Koruga Ivana
Naziv teme: „Transfer metoda za određivanje sadržaja, ispitivanje stepena čistoće i brzine rastvaranja kalecitabin film tableta: uloga kalecitabina u hemio terapiji”
Mentor: prof.dr Zorica Vujić, rad odbranjen 02.04.2015.
- 2) **Kandidat:** Janjić Ana
Naziv teme: „Razvoj, optimizacija i validacija RPHPLC metode za određivanje sadržaja tiomersala u toksoidnim vakcinama/Efikasnost i bezbednost tiomersala kao konzervansa u toksoidnim vakcinama”
Mentor: prof.dr Danica Agbaba, rad odbranjen 09.04.2015.

- 3) **Kandidat:** Jović Marija
Naziv teme: „UPLC/HPLC transfer metoda za ispitivanje moksifloksacina u tabletama”
Mentor: prof.dr Mira Zečević, rad odbranjen 20.04.2015.
- 4) **Kandidat:** Miladinović Tamara
Naziv teme: „I razvoj i validacija metoda tečne hromatografije za farmaceutsku analizu diklofenak-kalijuma i njegovih srodnih supstanci primenom eksperimentalnog dizajna, II terapijski i bezbednosni profil diklofenaka”
Mentor: prof.dr Biljana Stojanović, rad odbranjen 05.10.2015.
- 5) **Kandidat:** Vulović Miljana
Naziv teme: „Razvoj i validacija metode tečne hromatografije za određivanje sadržaja bisoprolola, hidrohlortijazida i njihovih nečistoća u tabletama/uloga beta blokatora u terapiji hipertenzija”
Mentor: prof.dr Olivera Čudina, rad odbranjen 11.12.2015.
- 6) **Kandidat:** Rešetar Jelena
Naziv teme: „Quality by Design koncept u razvoju i validaciji metode tečne hromatografije hidrofilnih interakcija za analizu graničetrona i njegovih nečistoća u farmaceutskim preparatima”
Mentor: prof.dr Biljana Stojanović, rad odbranjen 21.12.2015.
- 7) **Kandidat:** Mitić Milica
Naziv teme: „Poređenje farmakopejskih propisa za procenu kvaliteta odabranih lekova iz grupe antipsihotika”
Mentor: prof.dr Danica Agbaba, rad odbranjen 28.12.2015.
- 8) **Kandidat:** Vragolić Maja
Naziv teme: „Razvoj, validacija i transfer metode tečne hromatografije za određivanje sadržaja diazepama i benzilalkohola u mikroklizmama; Mesto diazepama u savremenoj kliničkoj praksi”
Mentor: prof.dr Jasmina Brbrić, rad odbranjen 30.12.2015.

5. Kontrola i primena lekovitih biljaka

- 1) **Kandidat:** Pavičić Nada
Naziv teme: „Predlog kontrole kvaliteta lekovitog proizvoda sa preparatima droga *Menthae piperitae folium*, *Cynarae flos* i *Harpagophyti radix*”
Mentor: prof.dr Tanja Kundaković, rad odbranjen 13.05.2015.

6. Klinička farmacija

- 1) **Kandidat:** Špirić Nikolina

Naziv teme: „Analiza primjene antibiotika u terapiji vanbolničkih

pneumonija u Univerzitetskom Kliničkom centru Republike Srpske”

Mentor: prof.dr Branislava Miljković, rad odbranjen 25.12.2015.

Spisak studenata koji su završili specijalističke akademske studije na Univerzitetu u Beogradu – Farmaceutskom fakultetu u 2015. godini

1. Industrijska farmacija

Na specijalističkim akademskim studijama Farmacija 1 – modul Industrijska farmacija ukupno je odbranjeno 19 specijalističkih radova:

- 1) **Kandidat:** Martinović Jelena

Naziv teme: „Značaj patenata i žigova kao oblika industrijske svojine u farmaceutskoj industriji”

Mentor: prof. dr Zorica Đurić, rad odbranjen 08.05.2015.

- 2) **Kandidat:** Karavla Nataša

Naziv teme: „Primena upravljanja rizicima u proizvodnji lekova-studija slučaja”

Mentor: doc. dr Jelena Đuriš, rad odbranjen 24.06.2015.

- 3) **Kandidat:** Vesnić Vladimir

Naziv teme: „Karakteristike i funkcionalnost supedezintegratora u formulaciji tablete”,

Mentor: prof. dr Jelena Paročić, rad odbranjen 30.06.2015.

- 4) **Kandidat:** Barišić Slađana

Naziv teme: „Ispitivanje uticaja primarne ambalaže na stabilnost kapsula: studija slučaja”

Mentor: prof. dr Svetlana Ibrić, rad odbranjen 30.06.2015.

- 5) **Kandidat:** Stojković Stanislav
Naziv teme: „Glavni dosije aktivne supstance-studija slučaja”
Mentor: prof. dr Zorica Đurić, rad odbranjen 08.07.2015.
- 6) **Kandidat:** Vlatković Danica
Naziv teme: „Značaj i sadržaj validacionog master plana”
Mentor: prof. dr Zorica Đurić, rad odbranjen 08.07.2015.
- 7) **Kandidat:** Dangubić Jelena
Naziv teme: „Registracija lekova razvijena prema QbD pristupu”
Mentor: prof. dr Svetlana Ibrić , rad odbranjen 08.07.2015.
- 8) **Kandidat:** Čalija Bojan
Naziv teme: „Analiza neusaglašenosti sa zahtevima Dobre proizvođačke prakse utvrđenih u postupcima inspekcije u farmaceutskoj industriji”
Mentor: doc. dr Jelena Đuriš, rad odbranjen 08.07.2015.
- 9) **Kandidat:** Popović Miloš
Naziv teme: „Savremena oprema za tabletiranje”
Mentor: prof. dr Zorica Đurić, rad odbranjen 07.09.2015.
- 10) **Kandidat:** Jasić Nataša
Naziv teme: „Postupak registracije i sadržaj dokumentacije za registraciju biljnih lekova”
Mentor: prof. dr Svetlana Ibrić, rad odbranjen 07.09.2015.
- 11) **Kandidat:** Staletović Tamara
Naziv teme: „Razvoj čvrstih farmaceutskih oblika za oralnu primenu sa modifikovanim oslobođanjem primenom Quality by Design”
Mentor: prof. dr Svetlana Ibrić, rad odbranjen 21.09.2015.
- 12) **Kandidat:** Simonović Ivana
Naziv teme: „Pregled najznačajnijih standarda Međunarodne organizacije sa standardizaciju koji se odnose na medicinska sredstva”
Mentor: prof. dr Zorica Đurić, rad odbranjen 25.09.2015.
- 13) **Kandidat:** Mijatović Sanja
Naziv teme: „Zahtevi Dobre proizvođačke prakse za skladištenje i transport lekova u farmaceutskoj industriji”
Mentor: prof. dr Zorica Đurić, rad odbranjen 28.09.2015.

- 14) **Kandidat:** Radović Jadranka
Naziv teme: „Upravljanje rizicima u proizvodnji i primeni medicinskih sredstava”
Mentor: prof. dr Zorica Đurić, rad odbranjen 28.09.2015.
- 15) **Kandidat:** Pucarević Marija
Naziv teme: „Oprema za prenos materijala u farmaceutskoj industriji”
Mentor: prof. dr Zorica Đurić, rad odbranjen 28.09.2015.
- 16) **Kandidat:** Biberdžić Božana
Naziv teme: „Tehnologija analize procesa: mikseri-granulatori velike brzine”
Mentor: doc. dr Jelena Đuriš, rad odbranjen 30.09.2015.
- 17) **Kandidat:** Mijatović Mira
Naziv teme: „Varijacije i zahtevi za stabilnost”
Mentor: prof. dr Svetlana Ibrić, rad odbranjen 29.10.2015.
- 18) **Kandidat:** Aranđelović Aleksandra
Naziv teme: „Primena koncepta dizajniranja kvaliteta u razvoju lekova: Formulation by Design”
Mentor: doc. dr Jelena Đuriš, rad odbranjen 29.12.2015.
- 19) **Kandidat:** Obradović Vladimir
Naziv teme: „Podaci o pakovnim materijalima u dokumentaciji za dobijanje dozvole za stavljanje leka u promet”
Mentor: prof. dr Zorica Đurić, rad odbranjen 29.12.2015.

2. Farmaceutski menadžment i marketing

Na specijalističkim akademskim studijama Farmacija 1 – modul Farmaceutski menadžment i marketing ukupno je odbranjeno 16 specijalističkih radova:

- 1) **Kandidat:** Malešev Srbislav
Naziv teme: „Analiza potrošnje antibiotika za lečenje infekcija urinarnog trakta u periodu od 2008. do 2013. godine i usklađenosti sa Nacionalnim vodičem dobre kliničke prakse”
Mentor: doc. dr Ivana Tadić, rad odbranjen 19.03.2015.
- 2) **Kandidat:** Matić Dušica
Naziv teme: „Analiza tržišta i marketinške aktinosti vezane za galenske lekove iz Apoteke „Zaječar”
Mentor: doc. dr Ivana Tadić, rad odbranjen 18.05.2015.

- 3) **Kandidat:** Milanković Silje
Naziv teme: „Upotreba lekova u trudnoći-stavovi, znanja i intervencije farmaceuta u Norveškoj“
Mentor: prof. dr Ljiljana Tasić, rad odbranjen 26.06.2015.
- 4) **Kandidat:** Maričić Milena
Naziv teme: „Zdravstvena pismenost mlade populacije i reproduktivno zdravlje“
Mentor: doc. dr Dušanka Krajnović, rad odbranjen 06.07.2015.
- 5) **Kandidat:** Biserčić Milan
Naziv teme: „Analiza tržišta lekova i dijetetskih proizvoda u vezi sa osteoartitisom, primenom metode Boston Konsalting grupre, u okviru Apoteke „Pančevo“
Mentor: doc. dr Valentina Marinković, rad odbranjen 03.09.2015.
- 6) **Kandidat:** Vidaković Dara
Naziv teme: „Uticaj menadžmenta kategorije proizvoda na unapređenje kvaliteta farmaceutske usluge-studijska slučaja“
Mentor: doc. dr Valentina Marinković, rad odbranjen 16.09.2015.
- 7) **Kandidat:** Radujko Jelena
Naziv teme: „Upravljanje snabdevanjem plodovima i proizvodima od aronije na tržištu Srbije“
Mentor: doc. dr Valentima Marinković, rad odbranjen 23.09.2015.
- 8) **Kandidat:** Savić Nevena
Naziv teme: „Analiza unapređenja pružanja farmaceutskih zdravstvenih usluga u ZU „Apoteka Filly farm“
Mentor: doc. dr Valentina Marinković, rad odbranjen 28.09.2015.
- 9) **Kandidat:** Čubrilo Milijana
Naziv teme: „Procena kvaliteta usluge koja je usmerena ka korisnima različitog sptema zdravstvene prismenosti u apotekama na teritoriji opštine Kikinda“,
Mentor: doc. dr Dušanka Krajnović, rad odbranjen 28.09.2015.
- 10) **Kandidat:** Korać Nenad
Naziv teme: „Poslovna etika i komunikacija u farmaceutskim organizacijama- studija slučaja“
Mentor: doc. dr Dušanka Krajnović, rad odbranjen 28.09.2015.

11) Kandidat: Nikšić Aleksandar

Naziv teme: „Analiza tržišta i pozicioniranja sirupa iz proizvodnog programa „Pharmanova”

Mentor: doc. dr Valentina Marinković, rad odbranjen 29.09.2015.

12) Kandidat: Štulić Marijana

Naziv teme: „Upravljanje kvalitetom u distribuciji lekova u režimu „Hladnog lanca”- studija slučaja”

Mentor: doc. dr Valentina Marinković, rad odbranjen 30.09.2015.

13) Kandidat: Mikić Milena

Naziv teme: „Etički aspekti donošenja odluka u farmaceutskim organizacijama”

Mentor: doc. dr Valentina Marinković, rad odbranjen 30.09.2015.

14) Kandidat: Vujasin Marija

Naziv teme: „Upravljanje kvalitetom u oblasti kliničkih ispitivanja-studije slučaja”

Mentor: doc. dr Valentina Marinković, rad odbranjen 30.09.2015.

15) Kandidat: Lakić Dragana

Naziv teme: „Klinički i ekonomski ishodi pružanja intervencija i / ili farmaceutske usluge u apoteci”

Mentor: prof. dr Ljiljana Tasić, rad odbranjen 30.09.2015.

16) Kandidat: Mujačić Amir

Naziv teme: „Primena neuromarketinga u farmaceutskoj industriji-regulatorni i etički izazovi”

Mentor: doc. dr Valentina Marinković, rad odbranjen 14.12.2015.

3. Farmakoekonomija i farmaceutska legislativa

Na specijalističkim akademskim studijama Farmacija 1 - modul

Farmakoekonomija ukupno je odbranjeno 14 specijalističkih radova:

1) Kandidat: Canić Bojana

Naziv teme: „Uloga veledrogerije u kliničkim ispitivanjima lekova i medicinskih sredstava u Republici Srbiji: studija slučaja”

Mentor: doc. dr Dragana Lakić, rad odbranjen 30.01.2015.

- 2) **Kandidat:** Hrelja Zec Sandra
Naziv teme: „Sistem farmakovigilance u veledrogeriji”
Mentor: doc. dr Dragana Lakić, rad odbranjen 30.01.2015.
- 3) **Kandidat:** Amrain Maša
Naziv teme: „Znanje i percepcija o farmakovigilanci studenata odabranih fakulteta medicinskih nauka u Sarajevu”
Mentor: doc. dr Dragana Lakić, rad odbranjen 13.03.2015.
- 4) **Kandidat:** Zdravković Nataša
Naziv teme: „Farmakoekonomска анализа употребе лекова за терапију опиоидне зависности у „Специјалној болници за болести зависности” у Београду”
Mentor: doc. dr Dragana Lakić, rad odbranjen 23.03.2015.
- 5) **Kandidat:** Jabučanin Vladislava
Naziv teme: „Farmakoekonomска анализа и анализа потрошње нестероидних антиинфламаторних лекова у Црној Гори у периоду од 2010. до 2014. године”
Mentor: doc. dr Dragana Lakić, rad odbranjen 24.04.2015.
- 6) **Kandidat:** Simić Milena
Naziv teme: „Analiza postupka dobijanja dozvole za stavljanje leka u promet u Bosni i Hercegovini: studija slučaja”
Mentor: doc. dr Dragana Lakić, rad odbranjen 24.04.2015.
- 7) **Kandidat:** Mitrović Radica
Naziv teme: „Analiza потрошње antimikotika za sistemsku primenu kod dece i trudnica na teritoriji Pančeva u 2013. i 2014. godini”
Mentor: doc. dr Dragana Lakić, rad odbranjen 27.05.2015.
- 8) **Kandidat:** Ristić Jelena
Naziv teme: „Analiza потрошње inhibitorske pumpe i antagonista N2 receptora u zdravstvenoj ustanoci „Primax”, Beograd u periodu od 2009. do 2013. godine”
Mentor: doc. dr Dragana Lakić , rad odbranjen 17.07.2015.
- 9) **Kandidat:** Stijepić Mirjana
Naziv teme: „Farmakoekonomска анализа примене antagonista oksitocina i beta agonista u prevenciji prevremenog porođaja”
Mentor: doc. dr Dragana Lakić , rad odbranjen 25.09.2015.

10)Kandidat: Jovanović Igor

Naziv teme: „Analiza troškovne isplativosti visoko aktivne antiretrovirusne terapije i infekcije izazvane HIV virusom“

Mentor: prof. dr Nataša Bogavac-Stanojević, rad odbranjen 30.09.2015.

11)Kandidat: Razdorov Milica

Naziv teme: „Analiza regulatornih zahteva u vezi sa oglašavanjem lekova i medicinskih sredstava u Srbiji i zemljama u okruženju“

Mentor: doc. dr Dušanka Krajnović, rad odbranjen 30.09.2015.

12)Kandidat: Galić Milenković Maja

Naziv teme: „Farmakoekonomska evaluacija primene film tableta sitagliptina u terapiji diabetes melitusa tip 2 analizom troškovne isplativosti i analizom uticaja na budžet (budget impact) Fonda za zdravstveno osiguranje“

Mentor: doc. dr Dragana Lakić, rad odbranjen 30.09.2015.

13)Kandidat: Milošević Biljana

Naziv teme: „Analiza novih regulatornih zahteva u vezi sa kliničkim ispitivanjima u dečjoj populaciji“

Mentor: doc. dr Dušanka Krajnović, rad odbranjen 30.09.2015.

14)Kandidat: Rizvanbegović-Taletović Lejla

Naziv teme: „Lijekove za rijetke bolesti: analiza regulative, dostupnost i znanja farmaceuta Bosne i Hercegovine“

Mentor: prof. dr Guenka Petrova, rad odbranjen 30.09.2015.

4. Farmaceutska zdravstvena zaštita

25 kandidata je završilo specijalističke akademske studije odbranom slučaja iz prakse.

Ova grupa kandidata je 23.05.2015. završila specijalističke akademske studije:

Milutinović Marija

Milosavljević Jelena

Radović Milan

Vojinović Stana

Jakšić Ana

Agatonović Snežana

Stojiljković Jelena

Jocić Ivana

Jovanović Đorđe

Petrović Dara

Tadić Jelena

Novaković Ana

Nikitović Milana	Marković Sanja
Kovačević Dragana	Jovanović Mirjana
Vračević Sandra	Miljković Maja
Danilović Ivana	Obradović Gordana
Vasilić Andelka	Jovčić Gordana
Cvijović Dragana	Mrkajić Olga
Markanović Nina	

5. Kozmetologija

Na specijalističkim akademskim studijama Farmacija 2 – modul Kozmetologija ukupno je odbranjeno 6 specijalističkih radova:

- 1) **Kandidat:** Lazić Stanislava
Naziv teme: „Uloga dermokozmetičkih preparata u tretmanu melasme”
Mentor: prof. dr Gordana Vučeta, rad odbranjen 14.07.2015.
- 2) **Kandidat:** Bogdanović Milica
Naziv teme: „Biljni kozmetički sastojci u proizvodima za negu kože i oko očiju”
Mentor: prof. dr Gordana Vučeta, rad odbranjen 28.09.2015.
- 3) **Kandidat:** Vardić Ljiljana
Naziv teme: „Kozmetički aktivne supstance biljnog porekla u kremovima za negu starije kože”
Mentor: prof. dr Jela Milić, rad odbranjen 28.09.2015.
- 4) **Kandidat:** Matić Ana
Naziv teme: „Savremene formulacije kozmetičkih proizvoda za dnevnu negu kože lica”
Mentor: doc. dr Danina Krajišnik, rad odbranjen 30.09.2015.
- 5) **Kandidat:** Mitić Maja
Naziv teme: „Kozmetičke sirovine u savremenim formulacijama proizvoda za čišćenje i pranje kože”
Mentor: prof. dr Jela Milić, rad odbranjen 30.09.2015.
- 6) **Kandidat:** Indić Dragana
Naziv teme: „Koncept razvoja kozmetičkih proizvoda za pranje i čišćenje dečije i kože beba”
Mentor: prof. dr Snežana Savić, rad odbranjen 26.12.2015.

6. Farmacija 3 – Puštanje leka u promet

9 kandidata su završila specijalističke akademske studije izradom projektnog zadatka

- 1) **Kandidat:** Darkovska Serafimovska Marija
Naziv teme: „Strateški plan razvoja Agencije za lekove Makedonija”
Mentor: doc. dr Valentina Marinković, zadatak odbranjen 13.03.2015.
- 2) **Kandidat:** Jelenković Branka
Naziv teme: „Uticaj varijacija na puštanje serija leka-studija slučaja”
Mentor: prof. dr Valentina Marinković, zadatak odbranjen 03.04.2015.
- 3) **Kandidat:** Antić Nemanja
Naziv teme: „Uporedni pregled stavljanja u promet dijetetskog suplementa i tradicionalnog biljnog leka”
Mentor: doc. dr Valentina Marinković, zadatak odbranjen 06.04.2015.
- 4) **Kandidat:** Pavlović-Knežević Olivera
Naziv teme: „Provera ugovornog proizvođača lekova i odgovornost kvalifikovanog farmaceuta za puštanje serija leka u promet”
Mentor: prof.dr Zorica Đurić, zadatak odbranjen 02.06.2015.
- 5) **Kandidat:** Mitić Milan
Naziv teme: „Upravljanje kvalitetom u inovativnoj farmaceutskoj industriji”
Mentor: doc. dr Valentina Marinković, zadatak odbranjen 23.09.2015.
- 6) **Kandidat:** Kezić Marina
Naziv teme: „Pregled regulative iz oblasti zaštite životne sredine”
Mentor: doc. dr Valentina Marinković, zadatak odbranjen 23.09.2015.
- 7) **Kandidat:** Tasić Ljiljana
Naziv teme: „Kliničke evaluacije medicinskih sredstava-regulatorni i QP izazovi”
Mentor: doc. dr Valentina Marinković, zadatak odbranjen 29.09.2015.
- 8) **Kandidat:** Džikić Milica
Naziv teme: „Postupak stavljanja u promet veterinarskih lekova-studija slučaja”
Mentor: doc. dr Valentina Marinković, zadatak odbranjen 15.10.2015.

- 9) **Kandidat:** Stevanović Irina
Naziv teme: „Implementacija smernica dobre laboratorijske prakse u laboratoriji za biomedicinska ispitivanja Galenike a.d.”
Mentor: doc. dr Valentina Marinković, zadatak odbranjen 29.12.2015.

7. Biološki lekovi

Na specijalističkim akademskim studijama Biološki lekovi ukupno je odbranjeno 11 specijalističkih radova:

- 1) **Kandidat:** Šetina Milanka
Naziv teme: „Određivanje aktivnosti prekalikrein aktivatora u preparatima ljudskog albumina”
Mentor: prof. dr Nevena Arsenović-Ranin, rad odbranjen 07.07.2015.
- 2) **Kandidat:** Nikolić Miloš
Naziv teme: „Imunogenost bioloških lekova”
Mentor: prof. dr Nevena Arsenović-Ranin, rad odbranjen 17.07.2015.
- 3) **Kandidat:** Nikolić Sanja
Naziv teme: „Rekombinantni gonadotropini u postupku biomedicinski potpomognutog oplođenja”
Mentor: prof. dr Nevena Arsenović-Ranin, rad odbranjen 17.07.2015.
- 4) **Kandidat:** Mihajlović Ivana
Naziv teme: „Preparati anti-D imunoglobulina registrovani u Republici Srbiji”
Mentor: prof. dr Zorica Stojić-Vukanić, rad odbranjen 17.07.2015.
- 5) **Kandidat:** Miljković Vuk
Naziv teme: „Sadašnja i buduća generacija imunosupresivnih monoklonskih antitela”
Mentor: prof. dr Zorica Stojić-Vukanić, rad odbranjen 30.09.2015.
- 6) **Kandidat:** Đurica Jelena
Naziv teme: „Savremena anti-citokinska terapija autoimunskih bolesti”
Mentor: prof. dr Zorica Stojić-Vukanić, rad odbranjen 30.09.2015.
- 7) **Kandidat:** Stojić-Vukanić Zorica
Naziv teme: „Neželjeni efekti bioloških lekova”
Mentor: prof. dr Nevena Arsenović-Ranin, rad odbranjen 30.09.2015.

- 8) **Kandidat:** Radosavljević Katarina
Naziv teme: „Molekulske tehnike za tipizaciju humanih leukocitnih antigena (HLA)”
Mentor: prof. dr Zorica Stojić-Vukanić, rad odbranjen 30.09.2015.
- 9) **Kandidat:** Šavija Ana
Naziv teme: „Adjuvansi u vakcinama”
Mentor: prof. dr Zorica Stojić-Vukanić, rad odbranjen 30.09.2015.
- 10) **Kandidat:** Arsenović-Ranin Nevena
Naziv teme: „Biološki lekovi u lečenju sistemskog eritemskog lupusa”
Mentor: prof. dr Zorica Stojić-Vukanić, rad odbranjen 30.09.2015.
- 11) **Kandidat:** Jakovljević Jovana
Naziv teme: „Primena tocilizumaba u lečenju reumatoidnog artritisa i drugih sistemskih autoimunskih bolesti”
Mentor: prof. dr Nevena Arsenović-Ranin, rad odbranjen 18.12.2015.

8. Farmakoterapija u farmaceutskoj praksi

28 kandidata je završilo specijalističke akademske studije.

Radoljić Tamara	Savić Marijana
Todorov Bojana	Stevanović Jelena
Stanojevski Zorana	Boričić Biljana
Nerat Ljubica	Majkić Jelena
Jovanović Milana	Lukić Ksenija
Jelić Jasna	Stanić Mirjana
Jovanović Aleksandra	Šarčev Tijana
Simonović Marija	Popović Marijana
Opačić Anđelija	Nikolić Ivana
Milošević Mina	Borovina Jelena
Lučić Ivana	Avramović Jelena
Palović-Mitić Maja	Stanković Verica
Bilbija Bojana	Đorđević Tamara
Đorđević Brižita	Stanošević Jelena

9. Toksikološka procena rizika od zagađivača životne sredine

8 kandidata je završilo specijalističke akademske studije.

Medić Marijana

Panić Marija

Milaković-Ramadani Džejna

Stojnić Aleksandra

Pešić Ana

Kričković Marija

Radović Biljana

Stojanović Aleksandra

10. Biohemijska dijagnostika

Na specijalističkim akademskim studijama Biohemijska dijagnostika odbranjeno je 7 specijalističkih radova:

- 1) **Kandidat:** Mladenović Jelena

Naziv teme: „Ispitivanje parametara lipidnog statusa kod dece i adolescenata”

Mentor: prof. dr Vesna Kalimanovska-Spasojević, rad odbranjen 15.06.2015.

- 2) **Kandidat:** Zeljković Aleksandra

Naziv teme: „Elektroforetska karakterizacija subfrakcija lipoproteina miske i visoke gustine kod dece i adolescenata sa transplantiranim bubregom”

Mentor: prof. dr Vesna Kalimanovska-Spasojević, rad odbranjen 17.06.2015.

- 3) **Kandidat:** Stefanović Aleksandra

Naziv teme: „Status paraoksanaze 1 U raspodela subfrakcija lipoproteina visoke gustine u tipu 2 dijabetes melitusa”

Mentor: prof. dr Vesna Kalimanovska-Spasojević, rad odbranjen 17.06.2015.

- 4) **Kandidat:** Perić Maja

Naziv teme: „Povezanost tireoidnih oboljenja sa hiperglikemijom”

Mentor: prof. dr Marina Stojanov, rad odbranjen 30.06.2015.

- 5) **Kandidat:** Vlajkov Nadežda
Naziv teme: „Značaj određivanja metabolita vitamina D kod osteoporoze”
Mentor: prof. dr Vesna Kalimanovska-Spasojević, rad odbranjen 29.09.2015.
- 6) **Kandidat:** Simić Svetlana
Naziv teme: „Značaj određivanja tumorskih markera CA 125, HE 4 i ROMA Indexa u biohemijskoj dijagnostici karcinoma ovarijuma”
Mentor: prof. dr Vesna Kalimanovska-Spasojević, rad odbranjen 30.09.2015.
- 7) **Kandidat:** Vekić Jelena
Naziv teme: „Značaj ispitivanja subfrakcija lipoproteina niske i visoke gustine kod pacijenata sa opstruktivnom apnejom u snu”
Mentor: prof. dr Zorana Jelić-Ivanović, rad odbranjen 24.12.2015.

Spisak odbranjenih doktorskih disertacija na Univerzitetu u Beogradu – Farmaceutskom fakultetu u 2015. godini

1. Doktorske akademske studije – modul Farmaceutska hemija

- 1) **Kandidat:** Jovanović Marko
Naziv teme: „Teorijska i hemometrijska analiza retencionih mehanizama odabranih lekova u tečnoj hromatografiji hidrofilnih interakcija”
Mentor: prof. dr Biljana Stojanović, rad odbranjen 14.05.2015.
- 2) **Kandidat:** Crevar Sakač Milkica
Naziv teme: „Uticaj ekstrakta lista artičoke na metaolizam atorvastatina i optimizacija metoda tečne hromatografije za praćenje nastalih metabolita u biološkom materijalu”
Mentor: prof. dr Zorica Vujić, rad odbranjen 04.06.2015.

- 3) **Kandidat:** Kostić Nađa
Naziv teme: „Bioanalitika antiepileptika cviterjonske strukture nakon derivatizacije n-alkil hloroformatima primenom tečne hromatografije s masenom detekcijom”
Mentor: prof. dr Andelija Malenović i prof. dr Nebojša Jović, rad odbranjen 14.07.2015.
- 4) **Kandidat:** Popović Marija
Naziv teme: „Uticaj surfaktanata na protolitičke ravnoteže i izomerizaciju ACE inhibitora”
Mentor: prof. dr Gordana Popović i prof. dr Danica Agbaba, rad odbranjen 03.09.2015.
- 5) **Kandidat:** Čarapić Marija
Naziv teme: „Razvoj hromatografskih metoda za određivanje sadržaja, stepena čistoće i retencionih karakteristika ziprasidona primenom eksperimentalnog dizajna”
Mentor: prof. dr Danica Agbaba i doc. dr Katarina Nikolić, rad odbranjen 07.09.2015.
- 6) **Kandidat:** Vemić Ana
Naziv teme: „Haotropni agensi u analizi odabranih antiparkinsonika primenom tečne hromatografije-modelovanje i karakterizacija sistema”
Mentor: prof. dr Andelija Malenović, rad odbranjen 30.09.2015.
- 7) **Kandidat:** Kalinić Marko
Naziv teme: „Simulacije molekularne dinamike i računarsko dizajniranje inhibitora protein lizin metiltransferaze EZH2”
Mentor: prof. dr Slavica Erić, rad odbranjen 17.12.2015.
- 8) **Kandidat:** Đorđević Filijović Nataša
Naziv teme: „Karakterizacija i procena kritičnih parametara stabilnosti tableta olanzapina i aripiprazola primenom eksperimentalnog dizajna”
Mentor: doc. dr Katarina Nikolić, prof. dr Danica Agbaba, rad odbranjen 25.12.2015.

2. Doktorske akademske studije – modul Farmakognozija

- 1) **Kandidat:** Pavlović Ivan
Naziv teme: „Farmakognocijsko ispitivanje podzemnih organa srpske velestike, Ferula heuffelii Griseb. ex Heuffel (Apiaceae)
Mentor: prof. dr Silvana Petrović, rad odbranjen 18.03.2015.

3. Doktorske akademske studije – modul Farmaceutska tehnologija

- 1) Kandidat:** Đokić Marija

Naziv teme: „Ispitivanje fizičkohemijskih i aerodinamičkih karakteristika čestica leka dobijenih mikronizacijom u spiralnom vazdušnom mlaznom mlinu i sušenjem raspršivanjem”

Mentor: prof.dr Svetlana Iбриć, rad odbranjen 16.01.2015.

- 2) Kandidat:** Milović Mladen

Naziv teme: „Razvoj, izrada i karakterizacija čvrstih samodispergujućih formulacija za oralnu primenu”

Mentor: prof.dr Svetlana Iibrić, rad odbranjen 27.02.2015.

- 3) Kandidat:** Kovačević Anđelka

Naziv teme: „Lipidne nanočestice stabilizovane nejonskim polihidroksilnim surfaktantima: postupak dobijanja, karakterizacija, stabilnost i inkorporiranje lekovite supstance”

Mentor: prof.dr Snežana Savić, rad odbranjen 30.04.2015.

- 4) Kandidat:** Nikolić Nenad

Naziv teme: „Primena koncepta dizajna kvaliteta u identifikaciji, kvalifikaciji i modelovanju kritičnih atributa kvaliteta matriks tableta sa tramadol-hidrohloridom sa modifikovanim oslobođanjem”

Mentor: prof.dr Svetlana Iibrić, rad odbranjen 30.09.2015.

- 5) Kandidat:** Medarević Đorđe

Naziv teme: „Karakterizacija i optimizacija binarnih i ternarnih čvrstih disperzija i ciklodekstrin-polimer sistema kao nosača u cilju poboljšanja brzine rastvaranja teško rastvorljive lekovite supstance”

Mentor: prof.dr Svetlana Iibrić, rad odbranjen 11.12.2015.

- 6) Kandidat:** Krstić Marko

Naziv teme: „Formulacija i karakterizacija čvrstih samo-dispergujućih nosača karbamazepina izrađenih sa poroznim adsorbensima”

Mentor: prof.dr Svetlana Iibrić, rad odbranjen 28.12.2015.

4. Doktorske akademske studije – modul Medicinska biohemija

- 1) **Kandidat:** Kardum Nevena

Naziv teme: „Uticaj soka ploda aronije na markere oksidativnog statusa i profil masnih kiselina kod zdravih osoba sa ili bez faktora rizika za nastanak kardiovaskularnih bolesti”

Mentor: prof. dr Slavica Spasić, rad odbranjen 01.06.2015.

- 2) **Kandidat:** Ćujić Danica

Naziv teme: „Uticaj steroidnih hormona i njihovih antagonista na nivoje galektina u ćelijama trofoblasta čoveka in vitro”

Mentor: prof. dr Slavica Spasić, rad odbranjen 30.10.2015.

- 3) **Kandidat:** Petrović Stanislava

Naziv teme: „Dijagnostički i ekonomski značaj određivanja biomarkera akutnog oštećenja bubrega kod dece”

Mentor: prof. dr Nataša Bogavac-Stanojević, rad odbranjen 04.12.2015.

5. Doktorske akademske studije – modul Bromatologija

- 1) **Kandidat:** Delević Veselin

Naziv teme: „Ispitivanje uticaja termičkog tretmana na nastajanje akrilamida u namirnicama sa visokim sadržajem skroba primenom unapređene metode gasne hromatografije”

Mentor: prof.dr Ivan Stanković, rad odbranjen 25.12.2015.

6. Doktorske akademske studije – modul Farmakologija

- 1) **Kandidat:** Timić Stamenić Tamara

Naziv teme: „Uticaj modulacije GABAa receptora koji sadrže $\alpha 5$ podjedinicu na poremećaje pacova izazvane primenom dizolcipina, skopolamina i amfetamina”

Mentor: prof.dr Miroslav Savić, rad odbranjen 29.10.2015.

7. Doktorske akademske studije – modul Toksikologija

- 1) Kandidat:** Ćurčić Marijana

Naziv teme: „Subakutna toksičnost smeše dekabromovanog difeniletra i kadmijuma kod pacova”

Mentor: prof. dr Biljana Antonijević, rad odbranjen 27.03.2015.

- 2) Kandidat:** Janković Saša

Naziv teme: „Procena rizika pri ekspoziciji organohalogeni kontaminantima i teškim metalima putem hrane”

Mentor: prof.dr Biljana Antonijević, rad odbranjen 14.07.2015.

Odbanjene doktorske disertacije po starom programu

Farmaceutska tehnologija

- 1) Kandidat:** Ilić Marija

Naziv teme: „Primena in vitro i in silico metoda za predviđanje lek – hrana interakcije: tablete sa modifikovanim oslobođanjem nifedipina”

Mentor: prof. dr Jelena Parojčić, rad odbranjen 28.12.2015.

11. CENTRALNOEVROPSKI SIMPOZIJUM IZ FARMACEUTSKE TEHNOLOGIJE

(11th Central European Symposium on Pharmaceutical Technology)

Međunarodni centralnoevropski simpozijum iz farmaceutske tehnologije će se održati od 22-24. septembra 2016. godine u Beogradu, u organizaciji Farmaceutskog fakulteta Univerziteta u Beogradu. Ovaj međunarodni skup se održava svake druge godine na teritoriji centralne Evrope, a po prvi put u Srbiji.

Na skupu će učestvovati eminentni naučnici iz oblasti farmaceutske tehnologije, industrijske farmacije, medicinske hemije, fizičke hemije, farmakologije i farmakokinetike sa područja cele Evrope. Pored učesnika iz naučnoistraživačkih institucija, učešće će uzeti i predstavnici farmaceutske industrije i regulatornih tela iz naše zemlje, kao i sa područja cele Evrope. Predviđeno je učešće više od 200 učesnika. Sve informacije o skupu možete pronaći na web sajtu: <http://www.cespt2016.org/>

Glavne teme simpozijuma su:

- (a) od „smart” materijala do naprednih terapijskih sistema
- (b) regulativa – od generika do bioloških lekova
- (c) farmaceutsko inženjerstvo
- (d) *in vitro/in vivo/in silico* modelovanje

Simpozijum je dvodnevni, sa aktuelnim temama predavača po pozivu i brojnim predviđenim usmenim i poster prezentacijama. Naučni odbor čine eminentni naučnici iz devetnaest zemalja Evrope, a planirano je devet predavanja po pozivu:

1. Peter Kleinebudde, University of Dusseldorf, Germany: *Supersaturation in peroral drug delivery,*
2. Elias Fattal, University of Paris-Sud, France: *Targeted nanomedicines for local and systemic delivery,*
3. Mirjana Gašperlin, University of Ljubljana, Slovenia: *SMEDDS as a novel approach to enhance solubility and bioavailability of poorly water soluble drugs,*
4. Niklas Sandler, Åbo Akademi University, Finland: *3D printing in fabrication of drug delivery systems and medical devices,*

5. Thomas de Beer, Ghent University, Belgium: *From batch to continuous pharmaceutical manufacturing,*
6. Jelena Đuriš, University of Belgrade, Serbia: *Classification of QbD based models: regulatory vs. academic perspective,*
7. Rogério Gaspar, University of Lisboa, Portugal: *Integrative healthcare & the challenges for development in nanomedicines and non-biological complex drugs (NBCDs),*
8. Sandra Cvijić, University of Belgrade, Serbia: *In silico modeling: Transforming our ability to predict bioperformance of oral drug products,*
9. Katarina Nikolić, University of Belgrade, Serbia: *Study of Blood – Brain Barrier Permeation using Parallel Artificial Membrane Permeability Assay and Quantitative-Structure Permeability Relationship Modeling.*

Zadovoljstvo nam je da pozovemo zainteresovane kolege da se pridruže ovom značajnom događaju.

Prof dr Svetlana Ibrić

Predsednik Simpozijuma CESPT 2016