

UNIVERZITET U BEOGRADU
FARMACEUTSKI FAKULTET
11000 BEOGRAD
Ul. Vojvode Stepe 450
01 broj 1534/3
21.11.2019. godine

Na osnovu člana 28. Statuta Univerziteta u Beogradu - Farmaceutskog fakulteta i predloga Komisije za poslediplomske studije – doktorske studije, Nastavno-naučno veće Farmaceutskog fakulteta u Beogradu na sednici održanoj 21. 11. 2019. godine, donelo je

ODLUKU

PRIHVATA SE izveštaj Komisije za ocenu ispunjenosti uslova kandidata **doktora medicine Radojević Branislave** i naučne zasnovanosti teme za izradu doktorske disertacije pod naslovom:

„Korelacija odabranih genetičkih polimorfizama i komplikacija dugotrajne primene levodope kod osoba koje boluju od Parkinsonove bolesti“

i upućuje Veću naučnih oblasti medicinskih nauka Univerziteta u Beogradu na usvajanje, a po dobijenoj pisanoj saglasnosti odobrava izradu doktorske disertacije.

Odluku dostaviti: imenovanoj, Univerzitetu, dekanu, sekretaru, prodekanu za poslediplomsku nastavu i kontinuiranu edukaciju, Odseku za nastavu i studentska pitanja, poslovnom sekretaru i arhivi.

**PREDSEDNIK
NASTAVNO-NAUČNOG VEĆA
FARMACEUTSKOG FAKULTETA**

Prof. dr Sladana Šobajić

Факултет Фармацеутски

УНИВЕРЗИТЕТ У БЕОГРАДУ

1534/3
(Број захтева)

Већу научних области медицинских наука
(Назив већа научне области коме се захтев
упућује)

21.11.2019.
(Датум)

ЗАХТЕВ

**за давање сагласности на предлог теме докторске дисертације за кандидата
на докторским студијама**

Молимо да, сходно члану 47. ст. 5. тач. 3. Статута Универзитета у Београду ("Гласник Универзитета", број 162/11-пречишћени текст, 167/12 и 172/13), дате сагласност на предлог теме докторске дисертације:

**Корелација одабраних генетичких полиморфизама и компликација дуготрајне примене
леводопе код особа које болују од Паркинсонове болести**

(пун назив предложене теме докторске дисертације)
Фармакологија

НАУЧНА ОБЛАСТ

ПОДАЦИ О КАНДИДАТУ:

1. Име , име једног од родитеља и презиме кандидата:

Бранислава Сава Радојевић

2. Претходно образовање (назив и седиште факултета, студијски програм):

Универзитет у Београду –
Медицински факултет, медицина

2005.

3. Година дипломирања:

2009.

4. Година уписа на докторске студије:

Фармацеутске науке, модул: Фармакологија

5. Назив студијског програма
докторских студија:

ПОДАЦИ О МЕНТОРУ:

Име и презиме ментора: Мирослав Савић

Звање: редовни професор

Списак радова који квалификују ментора за вођење докторске дисертације:

1. Vasović D, Divović B, Treven M, Knutson DE, Steudle F, Scholze P, Obradović A, Fabjan J, Brković B, Sieghart W, Ernst M, Cook JM, Savić MM. Trigeminal neuropathic pain development and maintenance in rats are suppressed by a positive modulator of $\alpha 6$ GABA(A) receptors. *Eur J Pain* 2019;23:973-984.
2. Sieghart W, Savić MM. International Union of Basic and Clinical Pharmacology. CVI: GABA(A) Receptor Subtype- and Function-selective Ligands: Key Issues in Translation to Humans. *Pharmacol Rev.* 2018;70:836-878.
3. Batinić B, Stanković T, Stephen MR, Kodali R, Tiruveedhula VV, Li G, Scholze P, Marković BD, Obradović AL, Ernst M, Cook JM, Savić MM. Attaining in vivo selectivity of positive modulation of $\alpha 3\beta\gamma 2$ GABA(A) receptors in rats: A hard task! *Eur Neuropsychopharmacol* 2018;28:903-914.
4. Knutson DE, Kodali R, Divović B, Treven M, Stephen MR, Zahn NM, Dobričić V, Huber AT, Meirelles MA, Verma RS, Wimmer L, Witzigmann C, Arnold LA, Chiou LC, Ernst M, Mihovilovic MD, Savić MM, Sieghart W, Cook JM. Design and Synthesis of Novel Deuterated Ligands Functionally Selective for the γ -Aminobutyric Acid Type A Receptor (GABA(A)R) $\alpha 6$ Subtype with Improved Metabolic Stability and Enhanced Bioavailability. *J Med Chem* 2018;61:2422-2446.
5. Timić Stamenić T, Joksimović S, Biawat P, Stanković T, Marković B, Cook JM, Savić MM. Negative modulation of $\alpha 5$ GABAA receptors in rats may partially prevent memory impairment induced by MK-801, but not amphetamine- or MK-801-elicited hyperlocomotion. *J Psychopharmacol* 2015;29:1013-24.

Име и презиме ментора: Наташа Драгашевић Мишковић

Звање: ванредни професор

Списак радова који квалификују ментора за вођење докторске дисертације:

1. Svetel M, Tomić A, Dragašević N, Petrović I, Kresojević N, Jech R, Urgošik D, Banjac I, Vitković J, Novaković I, Kostić VS. Clinical course of patients with pantothenate kinase-associated neurodegeneration (PKAN) before and after DBS surgery. *J Neurol* 2019;266:2962-2969.
2. Kresojević N, Janković M, Petrović I, Kumar KR, Dragašević N, Dobričić V, Novaković I, Svetel M, Klein C, Pekmezović T, Kostić VS. Presenting symptoms of GBA-related Parkinson's disease. *Parkinsonism Relat Disord* 2015;21:804-7.
3. Agosta F, Canu E, Stojković T, Pievani M, Tomić A, Sarro L, Dragašević N, Copetti M, Comi G, Kostić VS, Filippi M. The topography of brain damage at different stages of Parkinson's disease. *Hum Brain Mapp* 2013;34:2798-807.
4. Lalić NM, Dragasević N, Stefanova E, Jotić A, Lalić K, Milčić T, Petrović I, Mačesić M, Kostić VS. Impaired insulin sensitivity and secretion in normoglycemic patients with spinocerebellar ataxia type 1. *Mov Disord* 2010;25:1976-80.
5. Weissbach A, Djarmati A, Klein C, Dragasević N, Zühlke C, Raković A, Guzvić M, Butz E, Tönnies H, Siebert R, Petrović I, Svetel M, Kostić VS, Lohmann K. Possible genetic heterogeneity of spinocerebellar ataxia linked to chromosome 15. *Mov Disord* 2010;25:1577-82.

У случају менторства дисертације на докторским студијама у групацији техничко-технолошких, природно-математичких и медицинских наука ментор треба да има најмање три рада са SCI, SSCI, AHCI или SCIE листе, као и Math-Net.Ru листе.

У случају менторства дисертације на докторским студијама у групацији друштвено-хуманистичких наука ментор треба да има најмање три рада са релевантне листе научних

Обавештавамо вас да је

Наставно научно веће

(назив надлежног тела факултета).

на седници одржаној 21.11.2019. размотрило предложену тему и закључило да је тема подобна за израду докторске дисертације јер садржи оригиналну идеју и да је од значаја за развој науке, примену њених резултата, односно развој научне мисли уопште.

ДЕКАН ФАКУЛТЕТА

- Прилог
- 1. Предлог теме докторске дисертације са образложењем.**
 - 2. Акт надлежног тела факултета о подобности теме за израду докторске дисертације.**
 - 3. Електронска верзија.**

Univerzitet u Beogradu – Farmaceutski fakultet

Nastavno naučnom veću

Komisiji za poslediplomskku nastavu – doktorske studije

Izveštaj Komisije za ocenu ispunjenosti uslova kandidata i naučne zasnovanosti teme doktorske disertacije

Odlukom Nastavno-naučnog veća Farmaceutskog fakulteta Univerziteta u Beogradu donetoj na sednici održanoj 12.09.2019. godine, imenovana je Komisija za ocenu ispunjenosti uslova kandidata doktora medicine Branislave Radojević i naučne zasnovanosti teme doktorske disertacije pod nazivom: **“Korelacija odabranih genetičkih polimorfizama i komplikacija dugotrajne primene levodope kod osoba koje boluju od Parkinsonove bolesti”**.

Komisiju za pisanje izveštaja o oceni ispunjenosti uslova kandidata i naučne zasnovanosti teme doktorske disertacije čine:

1. Dr Miroslav Savić, redovni profesor, Univerzitet u Beogradu – Farmaceutski fakultet, mentor
2. Dr Nataša Dragašević Mišković, vanredni profesor, Univerzitet u Beogradu – Medicinski fakultet, mentor
3. Dr Marina Svetel, redovni profesor, Univerzitet u Beogradu – Medicinski fakultet
4. Dr Ivan Jančić, docent, Univerzitet u Beogradu – Farmaceutski fakultet

Na osnovu analize priložene dokumentacije Komisija podnosi sledeći:

IZVEŠTAJ

1. Biografski podaci

Branislava Radojević je rođena 10. septembra 1977. godine u Rumi gde je završila osnovnu školu i gimnaziju. Obrazovanje je stekla na Medicinskom fakultetu Univerziteta u Beogradu,

gde je završila osnovne studije medicine, sa prosečnom ocenom 9,03 i stekla akademski naziv doktora medicine. Nakon fakulteta obavila je lekarski staž na Vojnomedicinskoj akademiji u Beogradu. Od 2007. do 2008. godine radila je kao klinički lekar u KBC Bežanijska kosa. Od 2009. do 2011. godine bila je zaposlena kao lekar opšte prakse u Domu zdravlja „Dijagnostika“, a potom od 2011. do 2018. u Domu zdravlja “Dr Ristić”. Specijalizaciju iz oblasti neurologije upisala je 2012. godine na Medicinskom fakultetu Univerziteta u Beogradu, a u oktobru 2018. godine položila je specijalistički ispit iz neurologije sa odličnom ocenom i time stekla zvanje specijaliste neurologije. Radi kao neurolog u Specijalnoj bolnici za cerebrovaskularne bolesti „Sveti Sava” u Beogradu. Dr Branislava Radojević govori engleski jezik.

2. Obrazloženje teme doktorske disertacije

a. Naučna oblast:

Farmakologija

b. Predmet naučnog istraživanja: Korelacija odabranih polimorfizama *COMT*, *DAT* (*SLC6A3*), *DRD2* i *ANKK1* gena i pojave motornih i nemotornih komplikacija usled dugotrajne primene levodope kod osoba koje boluju od Parkinsonove bolesti.

c. Naučna zasnovanost predložene teme doktorske disertacije:

Parkinsonova bolest (PB) je progresivno onesposobljavajuće oboljenje u čijoj osnovi leži nedostatak dopamina, nastao kao posledica degeneracije nigrostrijarnih puteva u supstanciji nigri. Klinički se karakteriše prisustvom četiri kardinalna motorna znaka: bradikinezije, tremora u miru, rigora i posturalne nestabilnosti, pri čemu je za postavljanje dijagnoze neophodno prisustvo bradikinezije i bar još jednog od preostala tri znaka. Pored navedenih kardinalnih motornih simptoma tokom trajanja bolesti ispoljava se i čitav spektar drugih motornih manifestacija PB u vidu poremećaja hoda, padova, motornih blokova u hodu, poremećaja gutanja i govora, kao i posturalnih deformiteta. Iako PB predstavlja paradigmu motorne bolesti, danas se ističe da su i brojni nemotorni simptomi (depresija, anksioznost, demencija, psihoza, autonomna disfunkcija, poremećaji spavanja) deo bolesti i mogu da prethode motornom ispoljavanju ¹. Nemotorni poremećaji nastaju kao posledica

oštećenja znatno širih regiona centralnog nervnog sistema zahvaćenih neurodegenerativnim procesom u sklopu PB.

PB predstavlja drugo po učestalosti neurodegenerativno oboljenje, odmah iza Alchajmerove bolesti, i svakako najčešći oblik parkinsonizma ^{2,3}. Incidenca i prevalenca PB eksponencijalno rastu sa starenjem, tako da posle 65. godine života 1% osoba ima PB ⁴.

Nakon pola veka kliničke primene zasnovane na korekciji neurotransmiterskog nedostatka, levodopa predstavlja „zlatni standard“ u terapiji motornih simptoma PB. Efikasnost i podnošljivost levodope znatno su poboljšani uvođenjem inhibitora dopa-dekarboksilaze (benzerazid i karbidopa). Mogući akutni neželjeni efekti levodope, poput mučnine, povraćanja, anoreksije, hipotenzije, obično nestaju posle 2 do 3 nedelje upotrebe leka ¹. Međutim, dugotrajna primena levodope, kao i sama progresija PB, vode razvoju niza komplikacija poput fluktuacija motornog odgovora, pojave diskinezija, halucinacija, psihoza i konfuzno-delirantnih stanja. ⁵

Oko 40-50% osoba lečenih levodopom razvija motorne komplikacije u vidu motornih fluktuacija i diskinezija nakon 4-6 godina od uvođenja levodope ⁶. Najčešća forma motornih fluktuacija je „wearing off“ fenomen koji predstavlja pogoršanje parkinsonih simptoma usled skraćivanja trajanja dejstva pojedinačne doze levodope. Ovo je ujedno i prvi tip motornih fluktuacija koji se javlja, i koji predstavlja uvod u pojavu složenijih tipova fluktuacija. Sa progresijom bolesti i kod hronične upotrebe levodope, javljaju se periodi naglog prelaska iz „on“ stanja (faza optimalnog dejstva leka i motornog poboljšanja) u „off“ stanje (faza vraćanja parkinsonih simptoma nakon isteka dejstva terapije), što se označava kao on-off fluktuacije. Smatra se da ova vrsta fluktuacija nastaje kao posledica farmakokinetičkih i farmakodinamskih faktora u vezi sa hroničnim uzimanjem levodope u prisustvu teške nigrostrijatne degeneracije ^{7,8}.

Levodopom indukovane diskinezije (LID) ili nevoljni pokreti klinički se uobičajeno ispoljavaju kao horeiformni ili distonični pokreti, a ređe u vidu balističkih pokreta i mioklonusa. Razlikuje se nekoliko tipova LID. Vršne diskinezije (engl. peak of dose) javljaju se u periodu kada je koncentracija levodope u krvi najveća. Ukoliko su diskinezije prisutne tokom celog „on“ perioda zovu se kvadratne (engl. square wave) diskinezije ^{7,8}. Bifazične

diskinezije se ređe javljaju i nastaju kada nivo levodope u plazmi raste ili opada. Postoje i „off“ diskinezije koje se javljaju kada je nivo levodope u plazmi veoma nizak, a manifestuju se bolovima i grčevima u nogama ili tipičnom distonijom stopala. Dokazano je da na razvoj LID značajno utiču dužina terapije levodopom, težina bolesti, uzrast kada počinje PB, doza levodope i inicijalna doza levodope ⁹.

Halucinacije se javljaju kod 8-40% PB pacijenata, najčešće kao vizuelne halucinacije sa očuvanom introspekcijom u inicijalnim fazama, a ređe i kao auditivne halucinacije ¹⁰. Pored halucinacija, klinički spektar psihotičnih simptoma u PB uključuje prisustvo lažnog doživljaja prisustva druge osobe, halucinacije prolaza, iluzije, sumanutosti ¹⁰. Psihotični simptomi u PB se javljaju kod oko jedne trećine bolesnika na terapiji, obično nakon 10 i više godina od postavljanja dijagnoze i u značajnoj meri narušavaju kvalitet života bolesnika. Faktori rizika za nastanak psihoze u PB su antiparkinsona terapija, starije životno doba, dužina trajanja bolesti, prisustvo kognitivnih poremećaja, depresije i poremećaja spavanja.

Polimorfizmi u različitim genima koji učestvuju u metabolizmu i transportu dopamina proučavani su u vezi sa pojavom neželjenih efekata primene levodope kod bolesnika koji boluju od PB. Najproučavaniji geni su: gen za katehol-O-metiltransferazu (COMT), gen za dopaminski transporter (*DAT* gen, *SLC6A3*) i geni za dopaminske receptore (DRD). Međutim, još uvek ne postoje konzistentni podaci o tome kako pojedine varijante gena određuju odgovor na terapiju levodopom u bolesnika koji boluju od PB.

COMT gen se nalazi na hromozomu 22 i kodira katehol-O-metiltransferazu (COMT) koja razgrađuje dopamin inaktivacijom do 3-O-metildope. COMT enzim postoji u dve izoforme: kraća, solubilna ili citosolna izoforma, i duža izoforma vezana za membranu (MB-COMT) koja je ujedno u najvećoj meri prisutna u mozgu. Aktivnost COMT enzima je delom određena i genetskim varijantama *COMT* gena. Supstitucija valina na poziciji 158 u metionin, odnosno, zamena G>A (Val158Met, rs4680) najčešće je proučavani *COMT* polimorfizam koji dovodi do veće termolabilnosti enzima, što za posledicu ima smanjenu aktivnost enzima. Nosioi Met/Met genotipa poseduju nisku COMT aktivnost, nosioci Met/Val genotipa intermedijarnu COMT aktivnost, a nosioci Val/Val genotipa visoku COMT aktivnost. Supstitucija valina metioninom na poziciji 158 događa se u dužoj izoformi, dok se ova supstitucija može naći i u kraćem obliku enzima, ali na poziciji 108 ^{11,12}.

Genetski uslovljene razlike u COMT aktivnosti mogu uticati ne samo na individualni odgovor na terapiju levodopom, već i na rizik od pojave motornih komplikacija ^{11,12}. Prospektivna studija sprovedena u Velikoj Britaniji pokazala je da postoji veći rizik od razvoja diskinezija tokom terapije levodopom među pacijentima sa PB koji su heterozigoti za Val158Met (dvostruko veći rizik) i kod pacijenata koji su homozigoti za alel niske aktivnosti 158Met (2.81 puta veći rizik). Veća učestalost diskinezija može biti u vezi sa izlaganjem visokim koncentracijama levodope osoba kod kojih je niža COMT aktivnost ¹³.

Gen koji kodira dopaminski transporter ili *DAT* gen, *SLC6A3* (Solute Carrier Family 6, member 3), lokalizovan je na hromozomu 5p15.3. Dopaminski transporter igra ključnu ulogu u kontroli jačine i trajanju dopaminergičke neurotransmisije mehanizmom brzog ponovnog preuzimanja dopamina u presinaptičke nervne završetke. Iako dopaminski transporter nije uključen u transport antiparkinsonskih lekova, može indirektno da utiče na farmakodinamiku, posebno u slučaju levodope, s obzirom na to da je dopamin aktivni metabolit levodopa ¹¹. Polimorfizam varijabilnog broja tandemskih ponovaka (eng. Variable Number of Tandem Repeats – VNTR) *DAT* gena identifikovan je u nekodirajućem 3'UTR regionu (engl. untranslated), a čini ga sekvenca od 40 baznih parova koja se ponavlja od najmanje 3 do najviše 11 puta. Iako se frekvencija alela sa različitim brojem ponavljanja razlikuje među različitim populacijama, aleli sa 9 i 10 ponovaka se najčešće sreću. Broj ponovaka može uticati na gensku ekspresiju i time preuzimanje dopamina iz sinaptičke pukotine ^{11,14}. *DAT* je odgovoran za uklanjanje dopamina iz presinaptičke pukotine u strijatumu, dok COMT ima glavnu ulogu u inaktivaciji dopamina u prefrontalnom korteksu ¹⁵

Retrospektivna studija koja je uključila 183 osobe obolele od PB proučavala je broj ponovaka u 3'UTR *DAT* genu kao potencijalni prediktor neželjenih efekata primene levodope. Pokazano je da se kod pacijenata sa psihozama ili diskinezijama alel sa 9 ponovaka javlja mnogo češće nego kod pacijenata koji nisu imali neželjene efekte primene levodopa ¹⁶. S druge strane, u literaturi postoje i podaci da navedeni polimorfizam ne utiče na razvoj levodopom indukovanih diskinezija ^{17,18}.

Dopaminski receptori su mete brojnih antiparkinsonskih lekova (levodopa u različitim fiksnim kombinacijama, agonisti dopaminskih receptora) i predstavljaju najčešće proučavane faktore u genetskim studijama, uglavnom u vezi sa bolestima zavisnosti, kompulzivnim

poremećajima i shizofrenijom, ali takođe i u lečenju PB ¹¹. Farmakološkim i biohemijskim metodama utvrđeno je postojanje dva tipa dopaminskih receptora: D1 (povezani sa aktivacijom adenilat ciklaze) i D2 (povezani sa inhibicijom istog enzima). Gensko kloniranje otkrilo je ukupno pet podtipova, D1-D5. Originalna D1 familija obuhvata D1 i D5, a D2 familija se sastoji od D2, D3 i D4 receptora. D1 i D2 receptori su najvažniji u patologiju PB i odgovoru na terapiju ¹¹.

DRD2 gen je lokalizovan na hromozomu 11(11q22-q23) i kodira D2 receptor. *ANKK1* gen je mapiran nizvodno od DRD2 gena. Do 2004. god. polimorfizam ovog gena je smatran kao DRD2 polimorfizam. Do sada je u više nezavisnih studija pokazano postojanje korelacije između nekih polimorfizama pojedinačnih nukleotida (SNP – single nucleotide polymorphism) u regionu *DRD2* gena i rizika od pojave motornih fluktuacija u odgovoru na terapiju levodopom. ¹¹ Osim toga, u skorašnjoj studiji koja je uključila brazilske pacijente sa PB, uglavnom evropskog porekla, uočen je povećan rizik od diskinezija ne samo za određene pojedinačne polimorfizme, nego i za TTCTA haplotip izveden iz 5 pojedinačnih DRD2 polimorfizama¹⁹.

d. Ciljevi istraživanja:

- Ispitivanje tipa i učestalosti pojave komplikacija dugotrajne primene levodope (motornih fluktuacija, diskinezija, halucinacija i psihoza) u grupi ispitanika;
- ispitivanje učestalosti polimorfizama *COMT*, *DAT (SLC6A3)*, *DRD2* i *ANKK1* gena u grupi ispitanika;
- ispitivanje korelacije između odabranih polimorfizama *COMT*, *DAT (SLC6A3)*, *DRD2* i *ANKK1* gena i učestalosti i težine diskinezija;
- ispitivanje korelacije između odabranih polimorfizama *COMT*, *DAT (SLC6A3)*, *DRD2* i *ANKK1* gena i pojave halucinacija i psihoza.

e. Metodologija naučnog istraživanja

U studiju će biti uključeno oko 200 bolesnika koji boluju od idiopatske Parkinsonove bolesti i koji se ambulantno i hospitalno leče na Odeljenju za bolesti nevoljnih pokreta, Klinike za neurologiju KCS u Beogradu.

Kriterijumi za uključivanje bolesnika u studiju biće: dijagnoza PB postavljena prema važećim kriterijumima Britanske banke moždanog tkiva, ≥ 40 godina starosti na početku pojave motornih simptoma, bar 2 godine na terapiji levodopom.

Kriterijum za isključivanje iz studije biće: bolesnici sa atipičnim parkinsonizmom i sekundarnim parkinsonizmom, podatak o postojanju ranijih psihijatrijskih oboljenja bolesnika (shizofrenija, shizo-afektivni poremećaji, sumanutosti, poremećaji raspoloženja sa psihotičnim karakteristikama, delirijum).

Bolesnici koji budu ispunili gore navedene kriterijume i dali pisanu saglasnost za učešće u studiji biće ispitani po sledećem protokolu:

1. Demografski i klinički podaci će biti dobijeni uz pomoć specijalno konstruisanog upitnika koji će sadržati: a) osnovne demografske karakteristike obolelog (pol, uzrast, stepen obrazovanja); b) porodičnu anamnezu o Parkinsonovoj bolesti; c) upitnik o PB (uzrast u kome je bolest počela, trajanje bolesti, strana na kojoj je bolest počela, inicijalni simptomi i znaci, aktuelna simptomatologija); d) podatke o antiparkinsonoj terapiji (inicijalna terapija, inicijalni i aktuelni odgovor na levodopu, dužina lečenja levodopom, trenutna terapija, lekovi i doze); e) podatke o motornim i nemotornim komplikacijama (vrsta i tip diskinezija, tip motornih fluktuacija, prisustvo halucinacija, sumanutosti).

Svi retrospektivni podaci o bolesti, terapiji i komplikacijama koje bolesnici i negovatelji budu davali biće naknadno provereni u dostupnoj medicinskoj dokumentaciji (istorije bolesti i ambulantni izveštaji).

2. Težina PB će biti procenjivana u "on" fazi putem Unificirane skale za ocenjivanje PB (*Unified Parkinson's Disease Rating Scale*; UPDRS).

3. Stadijum PB biće određen na osnovu Hoehn i Yahrove skale (*Hoehn and Yahr PD staging scale*; HY).
4. Funkcionalnost bolesnika u pogledu obavljanja dnevnih aktivnosti će se procenjivati u “on” i “off” fazi Skalom dnevnih aktivnosti (*Schwab and England Activities of Daily Living*; ADL).
5. Bihevioralna procena bolesnika, tj. prisustvo depresije i anksioznosti vršiće se primenom: Hamiltonove skale depresivnosti (*Hamilton Depression Rating Scale*; HDRS) i Hamiltonove skala anksioznosti (*Hamilton Anxiety Rating Scale*; HARS).
6. Procena kognitivnog statusa bolesnika vršiće se pomoću Mini-Mental skale (*Mini Mental State Examination*; MMSE).
7. Prisustvo nemotornih simptoma PB kod ispitanika će biti ispitano putem skrining Upitnika za nemotorne simptome PB (*Non-Motor Symptoms Questionnaire for Parkinson's disease*).
8. Kod ispitanika koji budu davali pozitivne odgovore na pitanja iz Upitnika za nemotorne simptome u vezi sa halucinacijama i/ili iluzijama biće potom putem strukturisanog intervjua procenjeno da li ispunjavaju NINDS/NIMH dijagnostičke kriterijume za dijagnozu psihoze u PB.
9. Kod bolesnika koji budu ispunili navedene dijagnostičke kriterijume za dijagnozu psihoze u PB, dalja evaluacija psihoze će se vršiti putem sledećih testova: *Neuropsychiatric inventory* (NPI) kod pacijenata sa kognitivnim deficitom (MMSE skor manji od 26); a Kratka skala psihijatrijske procene (*Brief Psychiatric Rating Scale*, BPRS) kod bolesnika sa očuvanim kognitivnim funkcijama.
10. Za kvalitativnu i kvantitativnu procenu halucinacija korišćiće se testovi: *Tottori University Hallucination Rating Scale* (TUHARS) i *The University of Miami Parkinson's disease Hallucinations Questionnaire* (UM-PDHQ).
11. Diskinezije će biti kvantifikovane po Skali za abnormalne nevoljne pokrete (*Abnormal Involuntary Movement Scale*; AIMS).

Genetička analiza: Bolesnicima i zdravim kontrolama će se uzimati uzorci periferne krvi za potrebe genetičkog ispitivanja odabranih polimorfizama gena. Genetičko ispitivanje će biti obavljeno u Laboratoriji za genetičku i molekularnu dijagnostiku neuroloških bolesti Klinike za neurologiju, KCS, u Beogradu. U kontrolnu grupu će biti uključeni ispitanici koji nemaju PB, kao ni druga neurološka i psihijatrijska oboljenja. Struktura kontrolne grupe će prema polu i uzrastu odgovarati grupi obolelih. U radu će biti vršena genotipizacija za 3 polimorfizma u *DRD2* genu (rs2283265, rs1076560, rs6277), 2 polimorfizma u *ANKK1* genu (rs1800497 i rs2734849) i 1 polimorfizam u *COMT* genu (Val158Met, rs4680). Takođe, biće određivan broj ponovaka u 3'UTR regionu *DAT* gena. Genotipizacija polimorfizama u *COMT* genu (rs4680), *DRD2* genu (rs2283265, rs1076560, rs6277) i *ANKK1* genu (rs1800497 i rs2734849) vršiće se metodom PCR u realnom vremenu (engl. real time polymerase chain reaction, Real-time PCR) korišćenjem komercijalnih TaqMan SNP Genotyping Assay-a na aparatu ABI Prism 7500 Fast Real-Time PCR System (Applied Biosystems, USA). Dobijeni rezultati biće obrađeni primenom programa 7500 Software (Applied Biosystems, USA). Broj ponovaka u 3'UTR regionu *DAT* (SLC6A3) gena biće određivan pomoću PCR metode (engl. Polymerase Chain Reaction, PCR) i razdvajanja dobijenih fragmenata na agaroznom gelu.

Statistička analiza: Od parametara deskriptivne statistike koristiće se proporcija, srednja vrednost i standardna devijacija (SD). Sve ispitivane varijable će prvo biti analizirane pomoću Kolmogorov-Smirnov testa da bi se utvrdilo da li se distribuišu po normalnoj raspodeli. Obrada kontinuiranih podataka vršiće se primenom Studentovog t-testa, kao i ANOVA i ANCOVA, Mann-Whitney i Kruskal-Wallis testovima. Kategorički podaci će biti upoređivani χ^2 testom. Međuzavisnost ispitivanih parametara analiziraće se primenom Spearman i Pearson korelacione analize, a zatim i multiplom linearnom regresionom analizom. Za statističku analizu koristiće se statistički program SPSS (IBM Corp., Armonk, NY, USA).

f. Literatura

1. Kostić VS. Parkinsonova bolest i parkinsonizam. Medicinski fakultet Univerziteta u Beogradu-CIBIF. 1998.
2. Calne D. A definition of Parkinson's disease. *Parkinsonism Relat Disord* 2000; II (Suppl I): S39-S40.
3. Poewe W. The natural history of Parkinson's disease. *J Neurol* 2006; 253(Suppl7): VII 2-6.
4. Van Den Eden SK, Tarner CM, Bernstein AL, Fross RD, Leimpeter A, Bloch DA, et al. Incidence of Parkinson's disease variation by age, gender and race/ethnicity. *Am J Epidemiol*. 2003; 157: 1015-22.
5. Elmyra V. Encarnacion, Robert A. Hauser. Levodopa-Induced Dyskinesias in Parkinson's disease: Etiology, Impact on Quality of Life, and Treatments. *Eur Neurol* 2008; 60: 57-66.
6. Ahlskog JE, Muenter MD. Frequency of levodopa-related dyskinesias and motor fluctuations as estimated from the cumulative literature. *Mov Disord* 2001; 16:448-458.
7. Jankovic J. Motor fluctuations and dyskinesias in Parkinson's disease: clinical manifestations. *Mov Disord*. 2005; 20 Suppl 11:S11-6.
8. Fox SH, Lang AE. Levodopa-related motor complications- phenomenology. *Mov Disord*. 2008; 23 Suppl 3:S509-14.
9. Schrag A, Quinn N. Dyskinesias and motor fluctuations in Parkinson's disease. A community-based study. *Brain* 2000; 123(11): 2297-2305.
10. Fénelon G, Mahieux F, Huon R, Ziegler M. Hallucinations in Parkinson's disease: prevalence, phenomenology and risk factors. *Brain* 2000; 123:733-745.
11. Kurzawski M, Bialecka M, Drozdziak M, Pharmacogenetic considerations in the treatment of Parkinson's disease. *Neurodegener. Dis. Manag.* 2015; 5(1): 27-35
12. Drozdziak M, Bialecka M, Kurzawski M. Pharmacogenetics of Parkinson's Disease - Through Mechanism of Drug Actions. *Current Genomics* 2013; 14 (8).
13. de Lau LM, Verbaan D, Marinus J, Heutink P, van Hilten JJ. Catechol-O-methyltransferase Val 158 Met and the risk of dyskinesias in Parkinson's disease. *Mov Disord* 2012; 27 (1): 132-135.
14. Moreau C. et al. Polymorphism of the dopamine transporter type I gene modifies the treatment response in Parkinson's disease. *Brain* 2015; 138: 1271-1283
15. Tunbridge EM, Harrison PJ, Weinberger DR Catechol-o-methyltransferase, cognition, and psychosis: Val158Met and beyond. *Biol Psychiatry* 2006;60:141-51.
16. Kaiser R, Hofer A, Grapengiesser A et al. L-dopa-induced adverse effects in PD and dopamine transporter gene polymorphism. *Neurology* 2003; 60 (11): 1750-1755.
17. Kaplan N, Vituri A, Korczyn AD et al. Sequence variants in SLC6A3, DRD2, and BDNF genes and time to levodopa-induced dyskinesias in Parkinson's disease. *J Mol Neurosci.* 2014; 53(2):183-188.

18. Contin M, Matinelli P, Mochi M et al. Dopamine Transporter Gene Polymorphism, SPECT Imaging, and Levodopa Response in Patients with Parkinson Disease. Clin Neuropharmacol. 2004; 27 (3): 111-115.
19. Rieck M, Schumacher-Schuh AF, Altmann V et al. DRD2 haplotype is associated with dyskinesia induced by levodopa therapy in Parkinson's disease patients. Pharmacogenomics. 2012; 13(15): 1701-1710.

g. Očekivani rezultati

Još uvek ne postoje konzistentni podaci o tome kako pojedine varijante gena određuju odgovor na terapiju levodopom kod bolesnika koji boluju od PB. Studija predstavlja pokušaj da se dâ doprinos razjašnjenju etiologije komplikacija dugotrajne terapije levodopom, i ukaže na moguću ulogu polimorfizama odgovarajućih gena u nastanku neželjenih komplikacija antiparkinsone terapije. Studija sličnog tipa do sada nije rađena na teritoriji Srbije. Određivanje uticaja odabranih genetskih polimorfizama kod bolesnika sa Parkinsonovom bolešću bi omogućilo predikciju terapijskog odgovora, kao i pravovremenu modifikaciju antiparkinsone terapije u cilju obezbeđivanja optimalnog odgovora, što ukazuje na moguću aplikativnost studije.

C. Zaključak

Na osnovu izloženog komisija smatra da će istraživanje u okviru predložene doktorske disertacije pružiti značajan naučni doprinos u razjašnjenju etiologije komplikacija dugotrajne terapije levodopom, kao i u razumevanju uloge odabranih polimorfizama gena u nastanku neželjenih komplikacija antiparkinsone terapije.

Komisija smatra da kandidat dr med. Branislava Radojević ispunjava sve uslove za izradu doktorske disertacije, s obzirom na naučnu zasnovanost i aktuelnost predložene teme. Komisija predlaže Nastavno-naučnom veću Farmaceutskog fakulteta da prihvati predloženu prijavu teme doktorske disertacije pod nazivom: “Korelacija odabranih genetičkih polimorfizama i komplikacija dugotrajne primene levodope kod osoba koje boluju od Parkinsonove bolesti”.

Beograd 21.10.2019.

Članovi komisije:

Dr Miroslav Savić, redovni profesor (mentor)
Univerzitet u Beogradu – Farmaceutski fakultet

Dr Nataša Dragašević Mišković, vanredni profesor (mentor)
Univerzitet u Beogradu – Medicinski fakultet

Dr Marina Svetel, redovni profesor
Univerzitet u Beogradu – Medicinski fakultet

Dr Ivan Jančić, docent
Univerzitet u Beogradu – Farmaceutski fakultet



КЛИНИЧКИ ЦЕНТАР

СРБИЈЕ

11000 БЕОГРАД; ПАСТЕРОВА 2,
РЕПУБЛИКА СРБИЈА

ЕТИЧКИ ОДБОР

11000 Београд, Пастерова 2
011 366-2080, 264-4850, Факс 011 306-7180

Број: 526/13

Дана: 21.12.2017. године

На основу одредаба Закона о здравственој заштити Републике Србије ("Сл. гласник РС", бр. 107/2005, 72/2009 - др. закон, 88/2010, 99/2010, 57/2011, 119/2012, 45/2013 - др. закон, 93/2014, 96/2015 и 106/2015), Закона о лековима и медицинским средствима Републике Србије ("Сл. гласник РС", бр. 30/2010 и 107/2012), Закона о правима пацијената („Сл. гласник РС”, бр. 45/13), Правилника о садржају захтева, односно документације за одобрење клиничког испитивања лека и медицинског средства, као и начина спровођења клиничког испитивања лека и медицинског средства ("Сл. гласник РС", бр. 64/2011 и 91/2013), Пословника о раду Етичког одбора Клиничког центра Србије бр. 3098/39 од 26.04.2012. год., поступајући у складу са Наčелима добре клиничке праксе (GCP), Етички одбор Клиничког центра Србије у саставу: Проф. др Андрија Богдановић - председник, Проф. др Зоран Дžамић - заменик председника, Проф. др Александар Стефановић, Doc. др Владан Живљевић, Проф. др Јелена Дрловић, Проф. др Милош Жарковић, Проф. др Виолета Мићиловић – Вучинић, Проф. др Весна Томић - Спирић, Др sci med Дијана Шефер - клинички фармаколог, Проф. др Драган Симић – лекари специјалисти сви запослени у Клиничком центру Србије и Проф. др Ђорђе Ђорђевић - дипл. правник, запослен на Криминалистичко - полицијској академији у Земуну, одлучујући о захтеву Проф. др Наташе Драгашевић Мишковић на својој 26. седници одржаној дана 21.12.2017. године, doneo је следећу

ОДЛУКУ

Одобрава се спровођење академског клиничког испитивања под називом: "Корелација генетичких полиморфизама и компликација дуготрајне примене леводопе код особа које болују од Паркинсонове болести".

Главни истраживач је Проф. др Наташа Драгашевић Мишковић.

Истраживач сарадник је Др Бранислава Радоевић.

Чланови истраживачког тима: Марија Бранковић и Ана Марјановић.

Истраживачи сарадници: Проф. др Мирослав Савић и Doc. др Иван Јанчић.

Резултати испитивања ће бити коришћени за израду докторске дисертације Др Браниславе Радоевић.

Испитивање ће бити спроведено на Клиници за неврологију Клиничког центра Србије.

Прilikом доношења одлуке Етички одбор је разматрао следећа документа:

1. Пропратно писмо/Обраци захтева за одобрење спровођења клиничког испитивања поднети Етичком одбору KCS,
2. Протокол испитивања,
3. Информација за пацијете и образац информисаног пристанка,
4. Биографија главног истраживача,
5. Тест листа (CRF),
6. Сагласност КOLEGIЈУМА КЛИНИКЕ за неврологију број 973 од 17.11.2017. године.

ПРЕДСЕДНИК ЕТИЧКОГ ОДБОРА

Проф. др Андрија Богдановић

