УНИВЕРЗИТЕТ У БЕОГРАДУ

ФАРМАЦЕУТСКИ ФАКУЛТЕТ

Бојана Ц. Голубовић

ПОПУЛАЦИОНИ ПРИСТУП ФАРМАКОКИНЕТИЧКОЈ АНАЛИЗИ ТАКРОЛИМУСА И СИРОЛИМУСА У ПАЦИЈЕНАТА СА ТРАНСПЛАНТИРАНИМ БУБРЕГОМ

Докторска дисертација

Београд, 2018.

UNIVERSITY OF BELGRADE

FACULTY OF PHARMACY

Bojana C. Golubović

POPULATION APPROACH TO PHARMACOKINETIC ANALYSIS OF TACROLIMUS AND SIROLIMUS IN KIDNEY TRANSPLANT PATIENTS

Doctoral Dissertation

Belgrade, 2018.

МЕНТОР ДОКТОРСКЕ ДИСЕРТАЦИЈЕ:

Др сц. Бранислава Миљковић, редовни професор
Универзитет у Београду, Фармацеутски факултет

ЧЛАНОВИ КОМИСИЈЕ:

Др сц. Вишња Лежаић, редовни професор
Клиника за нефрологију, Клинички центар Србије
Универзитет у Београду - Медицински факултет

Др сц. Катарина Вучићевић, ванредни професор
Универзитет у Београду - Фармацеутски факултет

Др сц. Сандра Везмар Ковачевић, ванредни професор
Универзитет у Београду - Фармацеутски факултет

Др сц. Соња Вучковић, редовни професор
Универзитет у Београду - Медицински факултет

ДАТУМ ОДБРАНЕ:

Докторска дисертација урађена је на Катедри за фармакокинетику и клиничку фармацију, Фармацеутског факултета, Универзитета у Београду. Део истраживања спроведен је на Клиници за нефрологију, Клиничког центра Србије.

Израда дисертације реализована је у оквиру истраживачког пројекта бр. 175023 (руководилац пројекта: проф. др Милица Простран, Медицински факултет, Универзитет у Београду) финансираног од стране Министарства просвете, науке и технолошког развоја Републике Србије.

„Ништа не чини човека толико срећним као његово поштено уверење да је учинио све што је могао улажући у свој рад своје најбоље способности.“
Михајло Идворски Пупин

За пружену самосталност, савете, подршку у тренуцима када ми је била најпотребнија и показано разумевање велико хвала мом ментору проф. др Бранислави Миљковић.

Искрено захваљујем и проф. др Вишњи Лежаић и проф. др Соњи Вучковић на сугестијама и коментарима, као и на чланству у Комисији.

Проф. др Катарини Вучићевић најтоплије захваљујем на пренесеном знању, помоћи и подршци у свим фазама израде ове дисертације, а изнад свега на искреном пријатељству.

Проф. др Сандри Везмар Ковачевић захваљујем на саветима, подршци, пријатељству и њеној ведрини.

Посебну захвалност дугујем Др Драгани Радивојевић на приступачности, љубазности и дивној сарадњи. Искрену захвалност желим да изразим и Др Радмили Благојевић и запосленима на Клиници за нефрологију, Клиничког центра Србије, Београд.

Колегама и пријатељима са Катедре за фармакокинетику и клиничку фармацију, Фармацеутског факултета, Универзитета у Београду захваљујем на пријатној и конструктивној радној атмосфери у којој је савлађивање свих препрека било лакше.

Највећу захвалност дугујем својим родитељима који су ми својом безусловном љубављу улили самопоуздање и дали ми крила. Душан, Богдана и Јанко су мој ветар у леђа, њихова љубав све чини могућим и достижним. Хвала!

Бојана

Популациони приступ фармакокинетичкој анализи такролимуса и сиролимуса у пацијената са трансплантираним бубрегом

Резиме

Циљ докторске дисертације био је да се применом популационе фармакокинетичке анализе идентификују и квантификују фактори фармакокинетичке варијабилности такролимуса и сиролимуса у пацијената са трансплантираним бубрегом.

Сви коришћени подаци, укључујући измерене концентрације лекова, били су део редовног терапијског и клиничког праћења пацијената. Популациона анализа вршена је коришћењем софтвера *NONMEM*®. Подаци за такролимус за период до 6 месеци и период од око годину дана након трансплантације анализирани су независно. Према критеријумима за укључивање/искључивање укупно је у групи за рани период након трансплантације било 105 пацијената, док је у групи за период од око годину дана након трансплантације било 45 пацијената. Развијени модели валидирани су техникама интерне валидације. Групу за развој модела за сиролимус чинили су подаци 25 пацијената, док су подаци 13 пацијената коришћени за екстерну валидацију. Додатно, развијени модел за сиролимус валидиран је и техникама интерне валидације.

Као фактори фармакокинетичке варијабилности оралног клиренса (*CL/F*) такролимуса у првих 6 месеци након трансплантације идентификовани су протекло време од трансплантације, укупна телесна маса, хематокрит, ниво аспартат аминотрансферазе (*AST*) и укупни протеини плазме. На вредности *CL/F* у периоду од око годину дана након трансплантације значајно су утицали укупна телесна маса и дневна доза такролимуса. Део варијабилности у *CL/F* сиролимуса објашњен је старошћу и функцијом јетре, израженом преко *AST*. Валидација развијених модела показала је њихову стабилност и адекватну предиктабилност.

Примена добијених валидираних модела омогућава израчунавање индивидуалних вредности *CL/F*, параметра који је основ за индивидуализацију режима дозирања.

Кључне речи: имуносупресиви; индивидуализација терапије; популационо моделовање; терапијски мониторинг; фармакокинетичка варијабилност; фармакометрија

Научна област: Фармација

Ужа научна област: Фармакокинетика и клиничка фармација

УДК број: 615.37:616.61-074(043.3)

POPULATION APPROACH TO PHARMACOKINETIC ANALYSIS OF TACROLIMUS AND SIROLIMUS IN KIDNEY TRANSPLANT PATIENTS

Abstract

The aim of the doctoral dissertation was to identify and quantify factors of the pharmacokinetic variability of tacrolimus and sirolimus in patients with a transplanted kidney using the population pharmacokinetic analysis.

All data used, including measured drug concentrations, were part of the regular therapeutic and clinical monitoring of patients. Population analysis was performed using *NONMEM*® software. Data for tacrolimus for a period of up to 6 months and a period of about a year after transplantation were analyzed independently. According to the criteria for inclusion / exclusion, in the group for the early period after transplantation were 105 patients, while in the group for the period of approximately one year after the transplantation were 45 patients. Developed models are validated by internal validation techniques. The sirolimus model was developed using data of 25 patients, while data of 13 patients were used for external validation. In addition, the developed model for sirolimus was validated by internal validation techniques.

The post-transplantation time, total body weight, hematocrit, aspartate aminotransferase level (*AST*) and total plasma proteins have been identified as factors of the pharmacokinetic variability of tacrolimus oral clearance (*CL/F*) in the first 6 months following transplantation. On the other hand, the *CL/F* in the period of about a year after the transplantation were significantly influenced by the total body weight and tacrolimus daily dose. Part of the variability in sirolimus *CL/F* was explained by the age and function of the liver, expressed through *AST*. The validation of the developed models has shown their stability and adequate predictability. The application of the obtained validated models allows estimation of individual *CL/F*, a parameter that is the basis for dosing regimen individualization.

Keywords: immunosuppressive drugs; therapy individualization; population modeling; therapeutic monitoring; pharmacokinetic variability; pharmacometrics

Scientific field: Pharmacy

Specific scientific field: Pharmacokinetics and Clinical Pharmacy

UDC number: 615.37:616.61-074(043.3)

Садржај

1. Уводна разматрања

Терапијске могућности за пацијенте са терминалном бубрежном слабошћу су дијализа и трансплантација бубрега. Дијализа је данас тако усавршена да пацијентима продужава живот и побољшава његов квалитет. Ипак, дијализа подразумева одређен степен рестриктивности у понашању (унос течности, путовања), а и без обзира на усавршеност није постигнута потпуна замена свих сложених функција бубрега. Сматра се да успешна трансплантација, као терапијска опција првог избора за пацијенте са терминалном бубрежном слабошћу, омогућава живот највишег квалитета овим пацијентима.

1.1. Трансплантација кроз историју

Лечење заменом оболелог органа помиње се у митологијама, бројним уметничким делима из различитих временских периода, у Библији. Тако се најпознатији међу лекарима светитељима, свети Козма и Дамјан помињу као чудотворци који су оболелу ногу Римљанина Јустинијана заменили ногом недавно преминулог Етиопљанина. Ову трансплантацију приказују многи средњевековни уметници кроз своја дела, а међу познатијим су слика фирентинског мајстора аутора фресака у капели Ринучини и дело италијанског сликара Анђелика Фра.

За отпочињање ере лечења трансплантацијом солидних органа било је потребно развити технику васкуларне анастомозе, што је, почетком 20. века пошло за руком др Алексису Карелу који је за то откриће награђен 1912. године Нобеловом наградом за физиологију или медицину (1, 2). Техника коју је описао др Карел се и данас користи у трансплантацији бубрега (3). 1906. године покушало се са ксенотрансплантацијом бубрега са овце, свиње, козе и примата, а прву трансплантацију са човека на човека, урадио је 1936. др Вороној (1, 4). Сви ови покушаји били су неуспешни, пресађени органи нису адекватно функционисали и примаоци су умирали убрзо након операција (1). Значај имуног одговора за успешност трансплантације описао је прво нобеловац Медавар (1).

Прву успешну трансплантацију бубрега извео је тим др Џозефа Мареја, децембра 1954. године у Бостону, између два идентична близанца. Успешност ове трансплантације потврдила је Медаварове претпоставке и указала на значај имуно одговора примаоца органа, односно на значај његове адекватне контроле и супресије (3). Др Мареј је 1990. године за заслуге на пољу трансплантације органа награђен Нобеловом наградом за физиологију или медицину (2).

Најзначајнији помак на пољу трансплантације учињен је увођењем имуносупресивних лекова у клиничку праксу. Знатно смањење учесталости одбацивања органа у првој години након трансплантације донело је увођење калцинеуринских инхибитора, пре свега циклоспорина (3, 5).

Прва трансплантација бубрега у Србији, којом су руководили проф. др Василије Јовановић и прим. др Милан Јовановић, урађена је у Београду, у Градској болници на Звездари 1973. године, а две године касније, 1975. године са трансплантацијом бубрега почиње Клиника за урологију, Клиничког центра Србије (6, 7). Првом успешном трансплантацијом од живог сродника даваоца у овој установи руководио је академик проф. др Сава Петковић (7). Центар за трансплантацију бубрега као део Клинике за урологију, Клиничког центра Србије, данас наш највећи центар овог типа, званично је отворен 1. фебруара 1980. године (8). У овом центру је у периоду од његовог оснивања до 2010. урађено 838 трансплантација. У 71.36% од тог броја трансплантација порекло органа је било од живог сродника (8). Према подацима са интернет странице Клинике за урологију, Клиничког центра Србије, у поменутој установи се у просеку годишње уради 27 трансплантација бубрега (9).

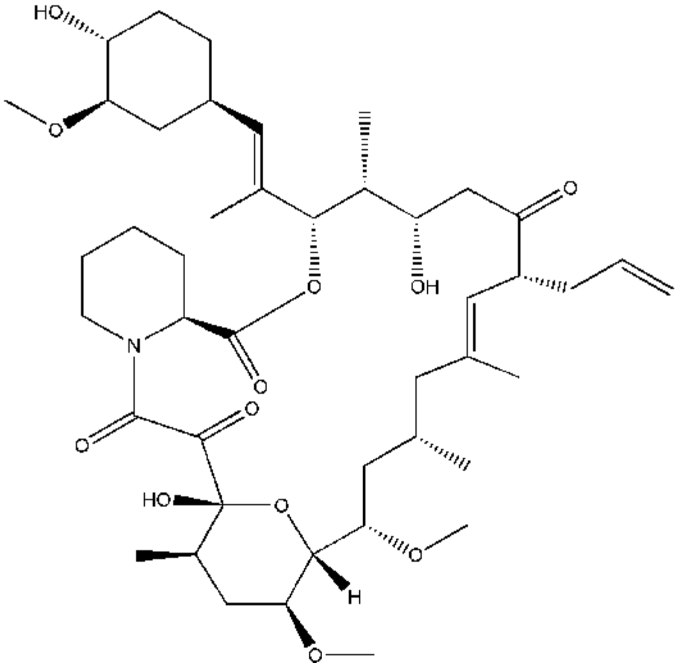
1.2. Имуносупресивни лекови у трансплантацији бубрега

Откриће да је одбацивање трансплантираног органа имунска реакција и примена имуносупресије заправо представљају почетак успешне клиничке праксе трансплантације органа.

Имуносупресивна терапија у трансплантацији бубрега, адекватан избор и комбинација различитих лекова, у великој мери утичу на успешност интервенције. Тренд савремене фармакотерапије јесте индивидуалан приступ пацијенту, па се и на пољу имуносупресивне терапије тежи ка томе, али у оквиру важећих препорука. Сваки трансплантациони центар располаже својим препорукама али се сви, у мањој или већој мери, ослањају на најактуелнији водич за примену имуносупресивне терапије након трансплантације бубрега, *KDIGO* (*Kidney Disease Improving Global Outcomes*) смернице. Према овим смерницама препоручена је комбинована имуносупресивна терапија која укључује калцинеурински инхибитор, антипролиферативни лек, са или без кортикостероида (10). Од калцинеуринских лекова као лек првог избора саветује се такролимус, а од антипролиферативних микофенолат (10). Употреба *mTOR* (*the mammalian target of rapamycin*) инхибитора се препоручује као замена за калцинеурински инхибитор или антипролиферативни лек, а ако се користе, са њиховом применом не треба почети пре успостављања функције графта и зацељивања хируршке ране (10). Већину имуносупресивних лекова који се примењују након трансплантације карактеришу мали терапијски индекс и висока фармакокинетичка интра- и/или интериндивидуална варијабилност (11-14). У складу са таквим карактеристикама лекова и смернице *KDIGO* препоручују рутинско одређивање концентрација циклоспорина, такролимуса, микофенолата и сиролимуса на одређени временски период тј. терапијски мониторинг ових лекова (*Therapeutic Drug Monitoring, TDM*) (10). У наставку ће детаљније бити описана клиничка фармакокинетика лекова такролимуса и сиролимуса, чија фармакокинетичка анализа популационим приступом је тема ове дисертације.

1.2.1. Такролимус

Такролимус је макролидни лактон (Слика 1.1) кога продукује гљивица *Streptomyces tsukumbaensis* и чија је примена у спречавању одбацивања графта након трансплантације бубрега одобрена 1997. од стране Америчке управе за храну и лекове (*Food and Drug Administration, FDA*) (15).



Слика 1.1 Хемијска структура такролимуса

1.2.1.1. Механизам дејства такролимуса, индикације и примена

Такролимус, заједно са циклоспорином, спада у групу лекова која се назива калцинеурински инхибитори због њиховог механизма дејства. Такролимус се везује за цитоплазматски имунофилин који се назива ФК везујући протеин 12 (*FK – binding protein – 12, FKBP12*). Комплекс такролимуса и *FKBP12* инхибира калцинеурин, који је фосфатаза одговорна за активацију Т лимфоцита посредством регулације активности нуклеарног фактора активираних Т ћелија (*Nuclear Factor of Activated T Cells, NF-AT*). Ако је *NF-AT* инактиван не долази до транскрипције одређене групе цитокин гена, укључујући и ген за интерлеукин 2 (*IL-2*) који доводи до ћелијске пролиферације и активације (16). Иако такролимус примарно делује на целуларни имуни одговор који је кључан за одбацивање органа, у мањој мери он инхибира и стимулацију Б ћелија и продукцију антитела (17).

Такролимус се системски примењује у терапији одбациавања трансплантата бубрега, јетре или срца. Уобичајено се примењује *per os* (*p.o.*) путем у виду капсула. У Србији је регистрован у виду капсула са тренутним или продуженим ослобађањем и таблета са продуженим ослобађањем, док се у свету могу наћи и грануле за оралну суспензију, као и концентрати за раствор за интравенску (*i.v.*) примену (18, 19). Такролимус је регистрован и за локалну примену у виду масти за лечење акутног запаљења коже (18, 19).

1.2.1.2. Клиничка фармакокинетика такролимуса

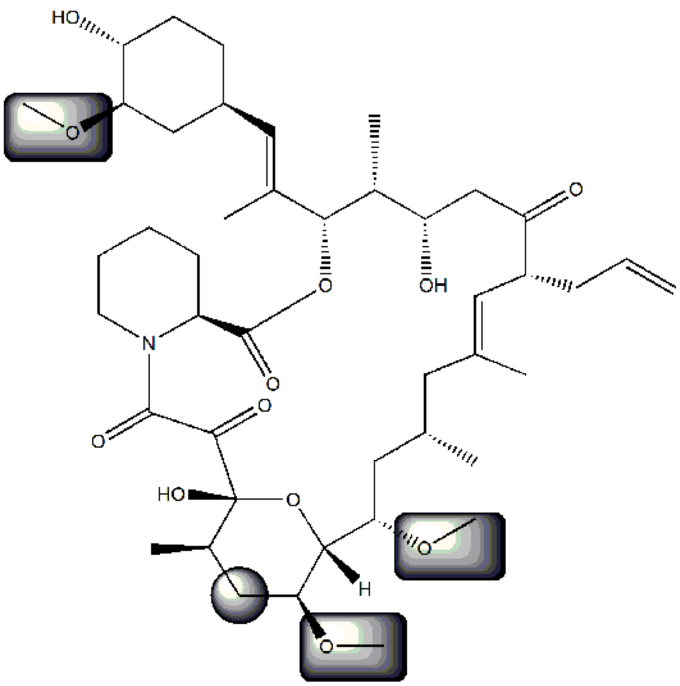
Након *p.o.* примене такролимус се брзо ресорбује, али његову ресорпцију карактерише велика варијабилност и у брзини и у степену (12, 20). Максималне концентрације (C_{max}) се постижу за 1 – 3 *h*, у просеку, након узимања капсула такролимуса, а просечна биолошка расположивост (*F*) је око 25% и може се кретати од 5% до 93% (12, 21).

Пресистемски метаболизам такролимуса, посредован гастроинтестиналним изоензимима цитохрома (*CYP) P450 3A*, је обиман (22, 23). Осим изоензима *CYP 3A*, такролимус је супстрат и ефлуксног гликопротеина П (*P-gp*) (12). *P-gp* пумпа лек из ћелије назад у лумен гастроинтестиналног тракта и снижава интрацелуларну концентрацију. И брзина и степен ресорпције такролимуса су већи ако се лек узима на празан стомак, а доминантан утицај има масна храна (21, 24). Присуство жучи није неопходно за ресорпцију такролимуса (12).

У крви, такролимус се налази претежно у еритроцитима, са просечним односом пуна крв / плазма око 20:1 (12, 21). Преузимање такролимуса у еритроците зависи од концентрације лека и при вишим концентрацијама долази до смањења вредности односа крв / плазма (25). У плазми, такролимус је везан за протеине плазме у фракцији од око 99% и то примарно за α_1 кисели гликопротеин, липопротеине, глобулине и албумин (26, 27).

Такролимус се у високом степену расподељује у организму и вредности оралног волумена дистрибуције (*Vd/F*) у стању равнотеже износе око 1300 *L* код здравих људи ако се рачуна на основу концентрација лека које су мерене у плазми, односно 47.6 *L* на основу података из пуне крви (21). Вредности *Vd/F* варирају у различитим популацијама у зависности од тога који је орган трансплантиран, а забележене су и разлике у педијатријској популацији у односу на одрасле (12). За такролимус је показано да пролази плаценту и да се излучује у млеко (12, 20).

Основни пут елиминације такролимуса јесте метаболичка трансформација тако да се < 0.5% непромењеног лека излучује урином или фецесом (28). Реакције метаболизма се примарно одвијају посредством изоензима подфамилије *CYP 3A* која је најзаступљенија подфамилија ензима и чини просечно од 30 до 40% укупног садржаја изоезима *CYP*-а танког црева и јетре одраслог човека (29). Подфамилију *CYP 3A* чине најмање 3 изоензима, *CYP 3A4*, *CYP 3A5* и *CYP 3A7*, од којих изоензим *CYP 3A4* учествује у метаболизму >55% свих лекова који су супстрати за *CYP* (29, 30). За експресију и активност изоензима *CYP 3A4* и *CYP 3A5* утврђена је велика интериндивидуална варијабилност и претпоставља се да генетички полиморфизам може бити разлог томе (29). У метаболичким реакцијама такролимуса настаје велики број метаболита, до 15 (12). У узорцима крви пацијената са трансплантираним бубрегом изоловано је 5 метаболита (деметил-, деметилхидрокси-, дидеметил-, дидемтилхидрокси- и хидрокси-такролимус) од којих су најзаступљенији деметил- и деметилхидрокси-такролимус (12). Ниједан идентификовани метаболит нема значајнију активност и излучују се примарно путем жучи (12, 28). На Слици 1.2 обележена су места на којима се дешавају метаболичке промене.



Слика 1.2 Места главних метаболичких трансформација такролимуса. Осенчени правоугаоници – деметилација, осенчен круг - хидроксилација

Ако се посматрају подаци о концентрацијама лека у крви, такролимус се може сврстати у категорију лекова са ниским клиренсом чија вредност чини у просеку око 3% протока крви кроз јетру (28). Као и *Vd/F*, вредности оралног клиренса (*CL/F*) и полувремена елиминације ($t_{1/2}$) се разликују у зависности од популације пацијената.

Генерално, за фармакокинетику такролимуса може се рећи да је карактерише велика интер- и интраиндивидуална варијабилност. Кроз различите фармакокинетичке студије, различитог дизајна, идентификовани су различити фактори варијабилности. Као што је већ поменуто, вредности фармакокинетичких параметара се разликују у различитим популацијама пацијената, па се сходно томе и препоручене дозе лека разликују након трансплантације јетре, бубрега или срца (21). Такође, у педијатријској популацији за постизање истих концентрација као код одраслих пацијената потребне су 1,5 – 2 пута веће дозе изражене по килограму телесне масе (21). Ослабљена функција јетре може довести до снижења *CL/F* и продужења $t_{1/2}$, па и код ових пацијената може бити потребна корекција дозе (31, 32). У сажетку карактеристика лека се наводи потреба за снижењем дозе такролимуса код пацијената са тешким оштећењем јетре, али не и у коликој мери (21).

Иако се у препорукама за дозирање лека у сажетку карактеристика лека не налазе смернице за кориговање доза у односу на остале могуће факторе варијабилности, у многим фармакокинетичким студијама, пре свега популационим по дизајну, су идентификовани и квантификовани утицаји великог броја различитих фактора. Приказ различитих фактора варијабилности идентификованих у различитим популационим студијама у пацијената са трансплантираним бубрегом дат је у Табели 1.1 (33).

Највећи број студија покушао је да објасни варијабилност у *CL/F* као кључном параметру за одређивање дозе лека, и најчешће се као разлози варијабилности срећу хематокрит (*HCT*), време протекло од трансплантације (*PDAY*) и генетички полиморфизам изоензима *CYP 3A5*. У одређеном броју студија показано је да и истовремена примена одређених лекова и такролимуса може довести до промене у вредностима фармакокинетичких параметара такролимуса. То не чуди обзиром да је такролимус супстрат изоензима *CYP 3A4*, најзаступљенијег у метаболизму свих данас примењиваних лекова, а супстрат је и за *P – gp*, транспортни протеин на чију функцију може утицати велики број лекова. Зна се да примена индуктора метаболизма уз терапију такролимусом може довести до потребе за повећањем доза такролимуса како би се избегла појава одбацивања органа. Неки од индуктора који могу утицати на нивое такролимуса су рифампицин, фенобарбитон, фенитоин и преднизон (34-37). Такође, доказано је да истовремена примена такролимуса и инхибитора метаболизма као што су: кларитромицин, еритромицин, клотримазол, флуконазол, кетоконазол, итраконазол, омепразол, дилтиазем, верапамил и ритонавир доводе до пораста концентрација такролимуса и повећавају шансу за испољавањем нежељених реакција и токсичности лека (34, 36, 37). Да се познавање интеракција лекова може користити у клиничкој пракси пример је препорука за смањење трошкова терапије из смерница *KDIGO* која као могућности за снижење потребних доза такролимуса нуди опције истовремене примене лека уз кетоконазол или недихидропиридинске блокаторе канала за калцијум (10).

Табела 1.1 Идентификовани фактори варијабилности такролимуса у популационим фармакокинетичким студијама у популацији пацијената са трансплантираним бубрегом

Идентификовани фактори варијабилности			**Реф.**
Параметри ресорпције	**Параметри расподеле**	***CL/F***	
F: *AGE*, пол, *PDAY*, *CYP 3A5*	*Q/F*, *Vc/F Vp/F*: *FFM*	*FFM*	(38)
t_{lag}: *FFM, PDAY* *F: CYP 3A5*	*Q/F*, *Vp/F*: *FFM, HCT* *Vc/F*: *BMI, HCT*	*FFM, HCT, CYP 3A5*	(39)
k_{res}: формулација	*Vc/F*: формулација	*HCT, CYP 3A5*	(40)
F: *KORT*		*HCT, CYP 3A5*	(41)
F: *KORT, CYP 3A5*		*CYP 3A5*	(42)
	Vd/F: *WT*	*PDAY, HCT, CYP 3A5*	(43)
		PDAY, AGE, KORT, CAB, CYP 3A5	(4)
		PDAY, WT, HCT, CYP 3A5	(44)
		PDAY, KORT	(45)
		PDAY, CYP 3A5	(46)
		PDAY, HCT, AST	(47)
		HCT	(48)
		HCT, CYP 3A5, P-gp	(49)
		PDAY, HCT, AST, никардипин, дилтиазем	(50)
		CYP 3A5	(51)
		CYP 3A	(52)
		CYP 3A5, PXR, KORT	(53)

AGE – старост; *AST* – ниво аспартат-аминотрансферазе; *BMI* – индекс телесне масе; *Vd/F* – орални волумен дистрибуције; *Vp/F*- орални волумен периферног простора; *Vc/F*- орални волумен централног простора; *KORT* – истовремена примена кортикостероида; k_{res} – константа брзине ресорпције; *PDAY* – време након трансплантације; *P-gp* – полиморфизам датог протеина; *PXR* – полиморфизам датог нуклеарног рецептора; t_{lag} – време одлагања; *F* – биолошка расположивост; *FFM* – телесна маса без масти; *HCT* – хематокрит; *CAB* – истовремена примена блокатора калцијумских канала; *CL/F* – орални клиренс; *CYP3A5* – полиморфизам изоензима; *Q/F*- орални клиренс између простора; *WT* – укупна телесна маса

При разматрању интеракција такролимуса са истовремено примењеним лековима никако не треба заборавити ни то да такролимус утиче на нивое других лекова, као и да до интеракција са потенцијалом за клинички значај може доћи и са биљним и традиционалним лековима и суплементима, или са неким намирницама из исхране. Клинички значајан пример за утицај такролимуса на нивое других лекова јесте интеракција са микофенолном киселином (34). Наиме, забележене су значајно веће минималне концентрације (C_{trough}) микофенолне киселине у групи пацијената који су је преимењивали уз такролимус у односу на групу која је била на истовременој терапији циклоспорином (34). Најчешће навођени примери интеракција такролимуса са храном или биљним и традиционалним лековима јесу интеракције са соком од грејпфрута (повећава нивое такролимуса инхибицијом *CYP 3A* у пресистемском метаболизму) и кантарионом (индукује *CYP 3A* и снижава концентрације такролимуса) (21, 34, 36).

1.2.1.3. Терапијски мониторинг такролимуса

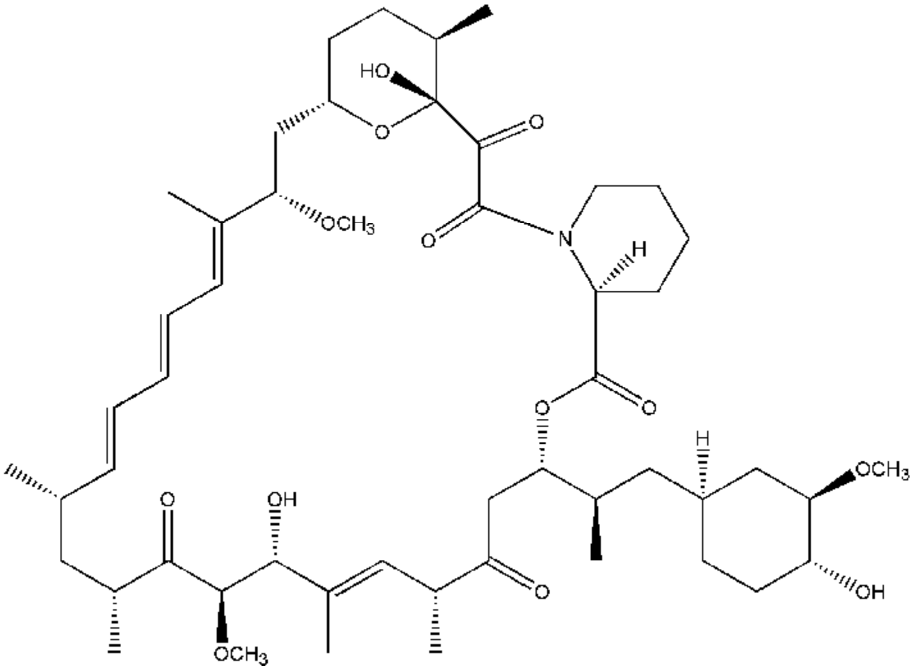
У складу са фармакокинетичким карактеристикама такролимуса, постојањем великог броја фактора који могу утицати на фармакокинетику лека, високом интра- и интериндивидуалном варијабилности, као и малим терапијским индексом, *TDM* такролимуса је индикован и смернице *KDIGO* га препоручују (10). У оквиру *TDM*-а такролимуса препоручује се одређивање C_{trough} тј. мерење концентрације лека пред давање наредне дозе, јер је показано да C_{trough} значајно корелише са изложеношћу организма леку израженом преко површине испод криве (*PIK*) (36).

Многе студије су показале да ниске вредности за C_{trough} корелишу са повећаним ризиком за одбацивање трансплантираног органа, док су високе вредности C_{trough} –а доведене у везу са повећаним ризиком за испољавање нежељених дејстава и токсичности (54-57). Резултати ових студија оправдавају примену *TDM*-а такролимуса, јер постојање корелације између мерене концентрације и ефекта лека јесте предуслов за спровођење *TDM*-а. Приликом тумачења одређених концентрација лека потребно је узети у обзир и коришћен биолошки материјал (плазма / пуна крв), као и биоаналитичку методу којом је вршено одређивање. Разлика у вредностима у зависности да ли је такролимус мерен у плазми или крви је последица његовог везивања за еритроците, а препоручени биолошки материјал јесте пуна крв уз додатак антикоагуланса (36). У погледу метода, најчешће су примењивани различити имунотестови који су мање специфични у односу на високо ефикасну течну хроматографију у комбинацији са масеним детектором (*High Performance Liquid Chromatography – Mass Spectrometry*, *HPLC – MS*) која се сматра златним стандардом (36). Ипак, студије су показале висок степен корелације међу овим методама (36). Разлог за већу заступљеност комерцијално доступних имунотестова у рутинској клиничкој пракси у односу на *HPLC – MS* јесте став да су једноставнији за примену и исплативији, мада за то нема јасних доказа (36). Имунотестовима се обично мере више концентрације јер се овим методама одређују неспецифично и лек и његови метаболити па то треба имати у виду у случају да се располаже подацима који су мерени на различите начине.

1.2.2. Сиролимус

Сиролимус, макролидни антибиотик изолован из врсте *Streptomyces hygroscopicus*, одобрен је од стране *FDA* за примену након трансплантације бубрега 1999. године (58). Његова хемијска структура приказана је на Слици 1.3.

.



Слика 1.3 Хемијска структура сиролимуса

1.2.2.1. Механизам дејства сиролимуса, индикације и примена

Сиролимус инхибира одговор ћелије на *IL-2* и пролиферацију Т ћелија. Његов механизам деловања је јединствен и разликује се од начина деловања такролимуса тј. калцинеуринских инхибитора (59, 60). Као и калцинеурински инхибитори, сиролимус се везује за *FKBP*, али комплекс сиролимуса и *FKBP* нема утицаја на активност калцинеурина. Комплекс се директно везује за специфични протеин *mTOR*, који регулише ћелијски циклус, и блокира његову ензимску активност (60).

Примена сиролимуса индикована је код одраслих пацијената у профилакси одбацивања органа након трансплантације бубрега (61). Сиролимус се примењује *p.o.* путем. У Србији је сиролимус регистрован у облику обложене таблете, док у другим земљама света постоји још и орални раствор (18, 19).

1.2.2.2. Клиничка фармакокинетика сиролимуса

Након *p.o.* примене оралног раствора сиролимуса ресорпција је брза и време за које се потижу C_{max} (t_{max}) износи 1 *h* након узимања једне дозе, а 2 *h* након поновљеног дозирања у популацији пацијената са трансплантираним бубрегом (58, 61). Код ових пацијената просечна системска *F* износи око 14% (58). Системска *F* након примене једне дозе сиролимуса у форми таблета у популацији здравих добровољаца је већа за око 27% у односу на расположивост из оралног раствора (61). У истој ситуацији просечна вредност C_{max} се смањује за 35%, а t_{max} се продужава за око 82% (61). У пацијената са трансплантираним бубрегом студије су показале мање изражене разлике у *F* након примене ових двеју формулација па се при конверзији препоручује примена исте дозе и провера концентрације 1 – 2 недеље након конверзије (61, 62). Генерално, ниска системска *F* сиролимуса може се објаснити обимним интестиналним и хепатичким метаболизмом посредованим изоензимима *CYP 3A*, као и чињеницом да је сиролимус супстрат за *P – gp*. Ове карактеристике сматрају се и главним узроцима забележене високе интериндивидуалне варијабилности у ресорпцији сиролимуса (13). Присуство хране у великој мери утиче на ресорпцију сиролимуса (63). Примена сиролимуса након оброка са високим садржајем масти доводи до спорије ресорпције, али и до повећања *PIK* – а у односу на примену на празан стомак (64). Због тога се препоручује да се сиролимус примењује увек на исти начин, са храном или без ње (61).

Сиролимус се у великој мери расподељује у организму са просечним вредностима *Vd/F* у стању равнотеже на основу података из пуне крви у распону 9 – 17 *L/kg* (63). У крви се примарно везује за еритроците (око 95%), а мањи део је локализован у плазми (3%), лимфоцитима (1%), тако да је однос крв / плазма у пацијената са трансплантираним бубрегом око 36:1 (58, 65, 66). Овај однос карактерише велика интериндивидуална варијабилност и сматра се да у великој мери зависи од *HCT* (36, 63). У плазми мање од 0,1% лека је слободно, а у највећој мери се везује за липопротеине (36).

Доминантан пут елиминације сиролимуса јесте метаболичка трансформација посредована у највећој мери изоензимом *CYP 3A4*, а не може се искључити ни учешће *CYP 3A5* и *CYP 2C8* (63, 67-69). Применом високо осетљивих биоаналитичких метода идентификовано је више метаболита који су по структури деметил-, хидрокси-, дидеметил-, дихидрокси-, трихидрокси- и тетрахидрокси- форме сиролимуса које показују само око 10% активности лека (36, 70, 71). Више од 90% метаболита се излучује путем жучи, док се свега 2.2% радиоактивности од примењене обележене дозе у популацији здравих добровољаца идентификује у урину (58, 72).

Просечне вредности $t_{1/2}$ износе 62 *h* што омогућава примену лека једном дневно, а са циљем постизања жељених терапијских концентрација може се применити и иницијална доза (63, 73, 74). У пацијената са стабилном функцијом графта просечни *CL/F* је око 208 ± 95 *mL/h/kg* (74).

Забележене су велике разлике у мереним концентрацијама сиролимуса међу пацијентима који су примали исте дозе лека и те разлике се приписују углавном великој интериндивидуалној варијабилности у ресорпцији и елиминацији сиролимуса (73). Неколико класичних фармакокинетичких студија се бавило факторима варијабилности сиролимуса и идентификовало да на вредности параметара могу утицати године, храна, раса, као и оштећење јетре (58, 64, 74-76). Не тако велики број популационих студија се бавио фармакокинетичком варијабилношћу сиролимуса у популацији пацијената са трансплантираним бубрегом и фактори који су у овим студијама идентификовани приказани су у Табели 1.2 (33). Као и у случају такролимуса, већини студија у фокусу је била варијабилност у *CL/F* и резултати овог малог броја студија су прилично неконзистентни.

Табела 1.2 Идентификовани фактори варијабилности сиролимуса у популационим фармакокинетичким студијама у популацији пацијената са трансплантираним бубрегом

Идентификовани фактори варијабилности		**Реф.**
Параметри расподеле	***CL/F***	
Vp/F: *WT* *α*: *WT*, *BSA*		(77)
	CYP 3A5	(78)
	AGE	(79)
	C_{trough} циклоспорина, *DSRL*, укупни холестерол, силимарин, глициризин	(80)

AGE – старост; *BSA* – површина тела; *DSRL* – дневна доза сиролимуса; *Vp/F*- орални волумен периферног простора; *CL/F* – орални клиренс; *CYP 3A5* – полиморфизам датог ензима; C_{trough} – минималне концентрације; *WT* – укупна телесна маса; *α* – константа брзине расподеле

Сиролимус, сходно својим фармакокинетичким карактеристикама, може ступати у интеракције са истовремено примењеним лековима. Познато је да кетоконазол, дилтиазем и циклоспорин доводе до повећања брзине и степена ресорпције сиролимуса, док рифампицин значајно смањује изложеност сиролимусу при истовременој примени (36, 58, 61). Могућа је потреба за корекцијом дозе сиролимуса када се истовремено примењује са неким од ових лекова како би се избегла евентуална појава одбацивања трансплантираног органа или појава нежељених реакција на сиролимус. Треба бити опрезан и са применом неких биљних и традиционалних лекова или дијететских суплемената, као што су препарати кантариона или силимарин и глицирizин, јер је могућа промена у вредностима фармакокинетичких параметара и нивоима сиролимуса при истовременој примени (61, 80). Такође, у току примене сиролимуса треба избегавати конзумирање сока од грејпфрута за који се зна да инхибира изоензим *CYP 3A4* (61).

1.2.2.3. Терапијски мониторинг сиролимуса

Мали терапијски индекс лека и велика интра- и интериндивидуална варијабилност у фармакокинетици чине сиролимус кандидатом за *TDM*. Смернице *KDIGO* препоручују праћење сиролимуса (10).

Утврђено је да C_{trough} сиролимуса корелишу са *PIK* – ом у стању равнотеже па се рутинско мерење ових концентрација може користити за вођење терапије (11, 58). За C_{trough} је, такође, показано да корелишу и са појавом акутног одбацивања (пацијенти са акутним одбацивањем су имали просечне вредности C_{trough} < 6 *ng/mL*, док су њиове вредности код пацијената који нису имали епизоде акутног одбацивања биле ≥ 10 *ng/mL*) (11).

Као и за такролимус, препоруке су да се сиролимус одређује у пуној крви с обзиром на његово везивање за еритроците (11, 61). И остале фармакокинетичке карактеристике сиролимуса се морају имати у виду када се планира *TDM*. Како лек карактерише велика вредност $t_{1/2}$ (око 62 *h*), мерење концентрације треба вршити тек након 5 – 7 дана примене једног дозног режима како би се обезбедило постизање стања равнотеже (58). Висока интериндивидуална варијабилност забележена је и у нивоима сиролимуса, па се препоручује да се евентуална корекција дозе лека врши на основу неколико измерених C_{trough}, које би оптимално требало бити измерене након више од 5 дана од последње промене у режиму дозирања (58).

Сиролимус се може одређивати применом различитих биоаналитичких метода, течне хроматографије (*Liquid Chromatography, LC*), *HPLC* у комбинацији са ултраљубичастим (*UV*) детектором или *HPLC – MS*, и различитим имунотестовима за које је карактеристична укрштена реактивност са метаболитима, док су *HPLC – UV* и *HPLC – MS* специфичне за сиролимус (59).

2. Фармакометрија

Назив фармакометрија потиче од грчких речи фармакон што значи лек и метриа – мерење. Фармакометрију називају и науком квантитативне фармакологије (81). Више дефиниција за појам фармакометрије је предлагано кроз не тако дугу историју постојања саме дисциплине. Рани предлози су се базирали на популационом приступу у методологији, пре свега на популационој фармакокинетици, док се у новијим приступима фармакометрија посматра као развој и примена статистичких и математичких модела да би се окарактерисала, разумела и правила предвиђања у фармакокинетици или фармакодинамици лекова (82). Фармакометријски модели се могу користити у различите сврхе као што су описивање фармакокинетичких и фармакодинамичких система, описивање процеса саме болести, објашњавање ових модела применом различитих механистичких модела, предвиђања на основу симулација, оптимизацију дизајна истраживања или оптимизацију режима дозирања. Фармакометрија је интердисциплинарна наука која кроз развијене математичке моделе може да утиче на доношење одлука у различитим фазама развоја и примене лекова (83).

2.1. Популациона фармакокинетичка анализа

Популациона анализа подразумева проучавање фармакокинетичких карактеристика лека, у циљној популацији пацијената који примењују лек у клинички релевантним дозама, са циљем да се идентификују и објасне разлози за појаву варијабилности у концентрацијама (84, 85). Популационом анализом се могу добити просечне вредности фармакокинетичких параметара за испитивану популацију, варијабилности ових параметара међу појединцима у оквиру популације (интериндивидуална варијабилност), варијабилности испитиваних параметара унутар испитаника понаособ (интраиндивидуална варијабилност), као и објашњење варијабилности у вредностима фармакокинетичких параметара (85-87).

Кроз историју развоја популационе анализе коришћено је више различитих методолошких и статистичких приступа као што су приступ сједињених података (*naive pooled data approach*), двостепени приступ (*two stage approach*) и нелинеарно моделовање комбинованих ефеката (*nonlinear mixed effect modeling approach*) (86, 88, 89). Наведени приступи се разликују по начину добијања популационих вредности и могућности процене варијабилности. Приступ сједињених података све податке посматра као да потичу од једног испитаника, па самим тим није могуће идентификовати интра- или интериндивидуалну варијабилност (86, 88). У двостепеном приступу се прво врши развијање индивидуалних фармакокинетичких профила и израчунавање параметара, а онда се у другом кораку, на основу добијених индивидуалних вредности параметара рачунају просечне вредности за дату популацију и одступања просечних популационих од индивидуалних вредности фармаокинетичких параметара (84, 86, 88). Овај приступ обично подразумева често добијање узорака биолошког материјала, у тачно дефинисаним временским интервалима код сваког испитаника понаособ, чиме се добија велики број узорака по испитанику и тако добијени подаци називају се богати подаци (*dense, rich data*) (87, 89). Процена варијабилности се у овом приступу своди на статистичку процену различитости индивидуалних од просечних популационих вредности (89).

Нелинеарно моделовање комбинованих ефеката увели су 70-их година 20. века Шајнер и Бил[*]. Мотив за развој таквог приступа била је управо немогућност анализе податка који нису богати, као што су подаци добијени *TDM* – ом. Подаци добијени од хетерогене групе испитаника, какви јесу пацијенти који примењују одређени лек, са малим бројем узорака по пацијенту називају се оскудни (*sparse, poor data*). Управо анализа таквих података дигоксина је била први пример примене овог приступа где су аутори показали да су успешно могли проценити фармакокинетичке карактеристике дигоксина, али и описати утицај физиолошких карактеристика на вредности фармакокинетичких параметара лека, нпр. утицај функције бубрега на *CL/F* (90, 91). Анализа оскудних података какви су подаци добијени из *TDM* – а захтевала је развој софистицираних статистичких техника процене. Први развијен метод процене јесте метод процене првог реда (*first order estimation method, FO*) (83, 90, 92). *FO* метод је добио назив јер линеаризацију нелинеарног модела врши преко првог развоја Тејлоровог реда[†] (83, 92). Након *FO* развијено је више метода за процене. Најчешће коришћен метод уз *FO* јесте кондиционални метод процене првог реда (*first order conditional estimation method, FOCE*) са интеракцијом (*FOCEI*) или без ње. Примена *FOCE* или *FOCEI* метода захтева више времена, јер се индивидуалне вредности параметара одређују при свакој итерацији (83, 92). Нове верзије (верзија 7) првог, и данас најчешће коришћеног, софтвера за популациону анализу *NONMEM*® - а донеле су велики број могућих метода процене, а неки од њих су Лапласов метод, итеративни двостепени модел (*iterative two stage method, ITS*), *Monte Carlo* метод, *Full Markov Chain Monte Carlo Bayesian Analysis* метод и многе друге (92, 93). Избор метода процене који ће се користити у анализи зависи од великог броја фактора који подразумевају циљ анализе, тип података, сложеност модела, степен

---

[*] *Lewis B. Sheiner* (1940 – 2004), клинички фармаколог и *Stuart J. Beal* (1941 – 2006), математичар, су творци софтвера *NONMEM*®

[†] *Taylor Brook* (1685 – 1731), енглески математичар. Тејлорова формула се користи за приближно израчунавање функције у околини неке тачке

нелинеарности, расположиво време (83). Када се говори о избору међу класичним методама процене (*FO, FOCE, FOCEI*) препорука је користити *FOCE* или *FOCEI* уколико не постоји проблем са временом трајања анализе (83).

Нелинеарно моделовање комбинованих ефеката, иако се развило зарад анализе оскудних података, користи се и у анализи богатих података. Тако се данас као дизајни узорковања материјала најчешће сусрећу:

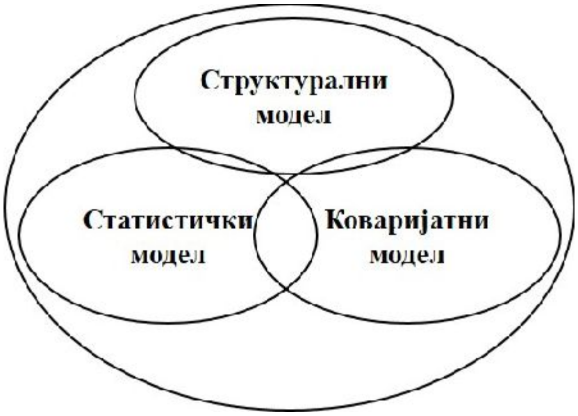
1. један узорак по испитанику који одговара C_{trough} (*single-trough sampling design*)
2. два или више узорака који одговарају C_{trough} код већине или свих испитаника (*multiple-trough sampling design*)
3. већи број узорака (1 – 6) у више различитих тренутака од узимања лека по испитанику (*full sampling design*) (84).

Овај приступ подацима је у основи једностепени, тј. за разлику од двостепеног приступа овде се и вредност параметара и њихова варијабилност процењују симултано. Термин комбиновани ефекти у називу приступа указује на то да се процењују истовремено тзв. стални и случајни ефекти. Под термином стални ефекти (θ) подразумевају се популационе вредности параметара модела (вредности централне тенденције – *typical value, TV*), као и квантификовани утицаји фактора који доприносе разликама у вредностима параметара међу појединцима, а термин случајни ефекти се односи на необјашњиву варијабилност у параметрима (разлике у вредностима параметара међу појединцима – интериндивидуална варијабилност или разлике у вредностима параметара код једног испитаника у различитим околностима – *interoccasion*) и грешку предвиђању модела (разлику између измерених и моделом предвиђених концентрација) (83-85, 92, 94).

Данас се термини нелинеарно моделовање комбинованих ефеката и популациона анализа често користе у литератури као синоними.

2.2. Популациони фармакокинетички модел

Као резултат популационе фармакокинетичке анализе добија се популациони фармакокинетички модел који је шематски приказан на Слици 2.1.



.

Слика 2.1 Популациони фармакокинетички модел

Популациони фармакокинетички модел се састоји од 3 субмодела (83, 84):

- структуралног – показује тренд у подацима тј. фармакокинетички модел лека. Може садржати и утицај неког фактора (коваријате) за који се зна да значајно утиче на вредности неког од фармакокинетичких параметара;
- статистичког – описује различите нивое варијабилности;
- коваријатног – описује релације између коваријата и фармакокинетичких параметара.

2.2.1. Структурални и статистички модел

Структурални и статистички модел заједно чине тзв. основни (*base*) модел. Структурални модел описује фармакокинетичке карактеристике лека у датој популацији, тј. представља просторни модел којим се подаци најбоље фитују (нпр. једнопросторни модел са линеарном ресорпцијом и елиминацијом) (92). Тако, структурални модел садржи вредности фармакокинетичких параметара као што су константа брзине ресорпције (k_{res}), Vd/F или CL/F. Као што је претходно наведено, структурални модел може садржати и дефинисани утицај неке коваријате за који се зна да значајно утиче на одређени фармакокинетички параметар (нпр. утицај клиренса креатинина на *CL/F* ако се лек 100% излучује урином) (83).

Статистички модел обухвата дефинисање интериндивидуалне варијабилности и резидуалне варијабилности.

Интериндивидуална варијабилност (η) представља разлике у вредностима фармакокинетичких параметара међу појединцима. Заправо, интериндивидуална варијабилност у нпр. *CL/F* за испитаника *i* (η_i *CL/F*) била би одступање индивидуалне вредности, CL/F_i од *TV CL/F*. Како се овакво одступање може проценити за сваког испитаника у оквиру популације, добија се низ, међусобно независних вредности η. Расподела свих η вредности у оквиру једне популације је нормална, са средњом вредности 0, стандардном девијацијом ω и варијансом ω^2, што се математички може записати као што је дато у Једначини 2.1 (83, 92, 94).

$$\eta = N\left(0, \varpi^2\right) \qquad \text{Једначина 2.1}$$

Резидуална варијабилност (ε) обухвата варијабилност чији се узрок не може тачно дефинисати, а може бити интраиндивидуална варијабилност, грешка у избору модела, грешка биоаналитичке методе приликом мерења концентрација, грешке у дозном режиму итд. (83, 92, 94). У суштини ε_{ij} представља разлику између мерене и моделом предвиђене концентрације за *i* – тог испитаника у *j* – том времену мерења и проценом свих одступања за све испитанике и сва времена узорковања добија се низ ε вредности чија је расподела нормална, са средњом вредности 0, стандардном девијацијом σ и варијансом σ^2 (Једначина 2.2).

$$\varepsilon_{ij} = N\left(0, \sigma^2\right) \qquad \text{Једначина 2.2}$$

Дакле, структурални модел се може записати на начин који је представљен у Једначини 2.3, где y_{ij} представља *j* – ту измерену концентрацију за *i* – тог испитаника, x_{ij} - *j* – ти податак за *i* – тог испитаника, *f* - функцију која повезује улазне податке и одговарајући фармакокинетички модел, θ су параметри модела, а ε_{ij} је резидуална грешка за *j* – ту измерену концентрацију за *i* – тог испитаника (83, 90).

$$y_{ij} = f\left(x_{ij}, \theta, \varepsilon_{ij}\right) \qquad \text{Једначина 2.3}$$

2.2.2. Коваријатни модел

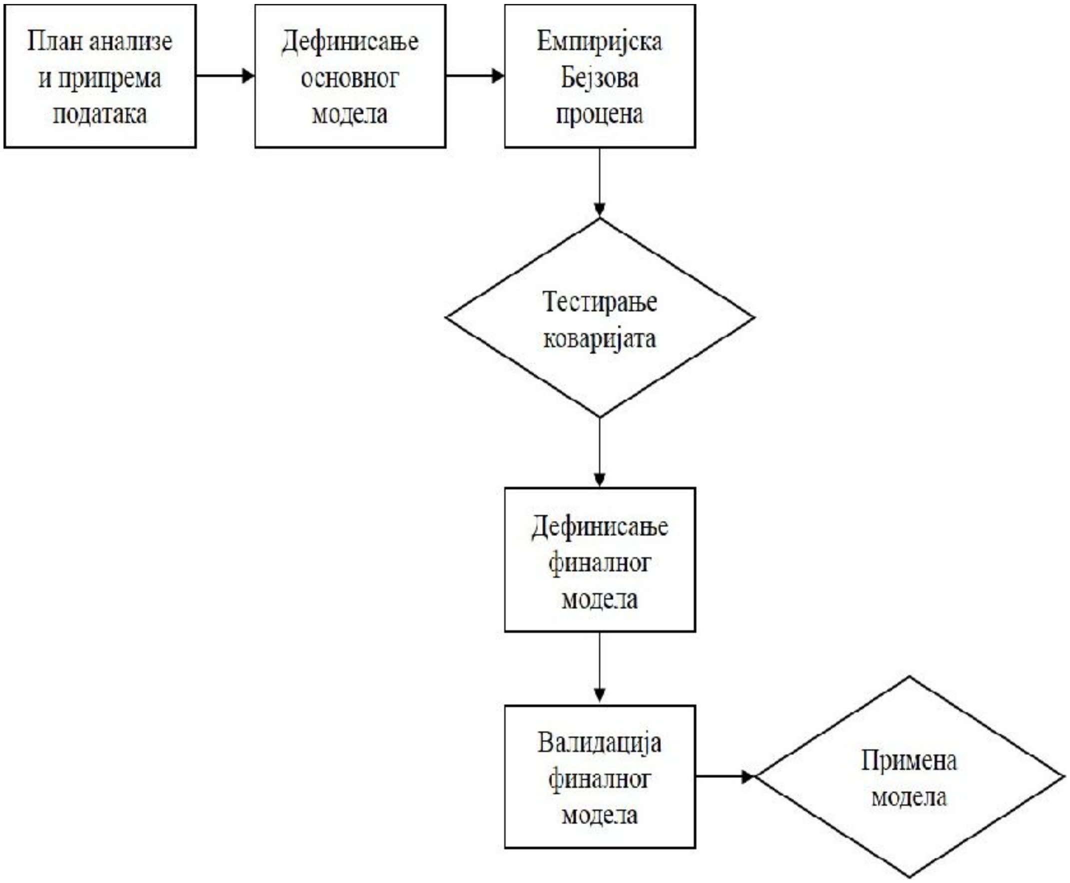
Коваријата представља било коју варијаблу која је специфична за индивидуалног испитаника и може утицати на фармакокинетику лека (83). Коваријате се могу поделити на оне чији је утицај генетски детерминисан, тзв. интринзичке и екстринзичке које представљају утицаје неких спољних фактора. Примери интринзичких коваријата су пол, телесна маса, старост, раса, а примери за екстринзичне су доза лека, присуство котерапије, пушачки статус итд. (83). Можда значајнија подела коваријата са аспекта моделовања јесте на категоричке и континуиране (83, 95). Ова подела је на основу природе саме варијабле чији се утицај жели испитати. Континуиране варијабле су оне чији је низ могућих вредности непрекидан, тј. могу имати било коју вредност у оквиру својих лимита (старост, телесна маса). Категоричке варијабле су оне чији су подаци категорисани у групе и могу бити бинарне (имају две вредности, нпр. пол) или мултипле (имају више вредности, нпр. раса).

Коваријатни модел је модел који укључује утицај коваријате на фармакокинетички параметар и може се приказати Једначином 2.4 где је θ_i – вредност фармакокинетичког параметра за испитаника η_i, g – функција коваријатног модела, θ_{cov} – фактор утицаја коваријате, $TV\theta$ – популациона, типична вредност фармакокинетичког параметра и η_i интериндивидуална варијабилност испитаника i (90, 95).

$$\theta_i = g\left(\theta_{\mathrm{cov}}, TV\theta, \eta_i\right) \qquad \text{Једначина 2.4}$$

2.3. Процес развоја и процене популационог фармакокинетичког модела

Процес развоја популационог фармакокинетичког модела је шематски представљен на Слици 2.2 (83).



Слика 2.2 Шематски приказ процеса моделовања у фармакометрији

На самом почетку потребно је направити јасан план анализе у коме се дефинише начин моделовања, као и начин приказивања резултата, у складу са подацима којима се располаже (83, 84, 92). Уједно, потребно је податке припремити и представити на одговарајући начин како то захтева софтвер који се користи.

Први корак у формирању модела јесте развој и процена, тј. дефинисање основног модела. Овај корак подразумева избор методе процене параметара, избор структуралног и статистичких модела, као и процену њихове адекватности.

Емпирijска Бејзова[*] процена (*empirical Bayesian estimates*, *EBE*) подразумева да се за сваког испитаника врши процена вредности параметара на основу информација о расподели њихових вредности у испитиваној популацији. Информације о расподели добијају се на бази основног модела. Индивидуалне вредности параметара добијене применом *EBE* користе се у прелиминарној анализи коваријата.

Након дефинисања основног модела и прелиминарне анализе коваријата врши се тестирање њиховог утицаја које се најчешће врши неком од техника које се заснивају на принципу поступног „додавања унапред и искључивања уназад“ (*forward inclusion – backward exclusion*).

Када се избор коваријата заврши, потребно је проценити њихову адекватност тј. дефинисати финални модел.

Једном дефинисан финални модел потребно је валидирати неком од техника интерне или екстерне валидације.

Валидиран модел се даље, ако је потребно, може користити за процену индивидуалних вредности параметара, индивидуализацију терапије или за различите симулације.

2.3.1. Развој и процена основног модела

Структурални део модела се бира или тако што се прегледом литературе утврди да одређени модел одговара фармакокинетици датог лека, или се врши тестирање више различитих модела и бира онај који најбоље фитује податке (83).

Начин моделовања интериндивидуалне варијабилности зависи од типа података. Када се ради о фармакокинетичким подацима најчешће се користи експоненцијални модел јер су вредности фармакокинетичких параметара ограничене само на позитивне вредности (83). Експоненцијални модел за описивање интериндивидуалне варијабилности неког параметра дат је у

---

[*] *Thomas Bayes* (1702. – 1761.) - енглески математичар, творац теореме о вероватноћи

Једначини 2.5 где је θ_i вредност параметра за испитаника i, TV типична вредност тог параметра за дату популацију, а η_i интериндивидуално одступање за испитаника i.

$$\theta_i = TV \cdot e^{\eta_i} \qquad \text{Једначина 2.5}$$

Као параметри интериндивидуалне варијабилнсоти наводе се ω^2 и коефицијент варијације (CV) изражен у процентима који се рачуна према Једначини 2.6 (83).

$$CV = \sqrt{\omega^2} \cdot 100\% \qquad \text{Једначина 2.6}$$

Као модели за описивање резидуалне варијабилности, најчешће се тестирају адитивни, пропорционални и комбиновани модел (83, 92, 95). Адитивни модел резидуалне грешке дат је у Једначини 2.7, пропорционални у Једначини 2.8, а Једначина 2.9 приказује комбиновани модел, где у датим једначинама $IPRED_{ij}$ представља j – ту индивидуалну моделом предвиђену вредност концентрације за испитаника i, а ε_{ij1} и ε_{ij2} су адитивни и пропорционални део резидуалне грешке.

$$y_{ij} = IPRED_{ij} + \varepsilon_{ij1} \qquad \text{Једначина 2.7}$$

$$y_{ij} = IPRED_{ij} + IPRED_{ij} \cdot \varepsilon_{ij2} \qquad \text{Једначина 2.8}$$

$$y_{ij} = IPRED_{ij} + IPRED_{ij} \cdot \varepsilon_{ij2} + \varepsilon_{ij1} \qquad \text{Једначина 2.9}$$

Процена основног модела врши се на основу успешности минимизације, броја места значајности (пожељно је да је ≥ 3), прецизности у процени параметара, одсуства значајног η и ε скупљања, као и на основу основних графика (83, 92, 96-98).

Софтвер *NONMEM*® податке фитује према задатом моделу по принципу који се заснива на максималној вероватноћи (*maximum likelihood*) која се изражава кроз вредности објективне функције (*objective function value*, *OFV*). Кроз низ итерација софтвер проналази комбинацију вредности задатих параметара модела које максимизирају вероватноћу улазних података и задати фармакокинетички модел, тако да се као резултат добија минимизирана вредности *OFV* (94). *OFV* представља двоструки негативни природни логаритам вероватноће података (L), математички записан у Једначини 2.10.

$$OFV = -2\ln(L) \qquad \text{Једначина 2.10}$$

Модел са нижом *OFV* се, дакле, сматра моделом који боље фитује податке, али при избору треба имати у виду и број параметара укључених у модел тј. сложеност модела (95, 99). *OFV* се може користити за поређење 2 модела када су они хијерархијски, тј. ако се сложенији модел може свести на простији када се један или више његових параметара фиксира на 0 (92). За поређење структуралних модела корисни су и Акајикеов[*] (*Akaike Information Criterion, AIC*) и Бејзов критеријум (*Bayesian Information Criterion, BIC*) јер узимају у обзир и број параметара у моделу (95). Начини израчунавања *AIC* и *BIC* дати су у Једначинама 2.11 и 2.12 где је n_p број параметара у моделу, а *N* број података (83, 95).

$$AIC = OFV + 2 \cdot n_p \qquad \text{Једначина 2.11}$$

$$BIC = OFV + n_p \cdot \ln(N) \qquad \text{Једначина 2.12}$$

AIC и *BIC* се међусобно не могу поредити, а сматра се да смањење за 2 у вредности *AIC* или *BIC* указује на предност датог модела у односу на поредбени (95). За *BIC* су неки аутори предложили и градацију предности неког модела у односу на други на основу смањења у вредности *BIC* и то: смањење за > 10 – врло јак доказ, 6 – 10 – јак доказ, 2 – 6 – постоји доказ, 0 – 2 – слаб доказ да је тестирани модел бољи (95, 100).

Прецизност параметара је важан сегмент процене модела. Прецизност се обично изражава кроз стандардну грешку за дати параметар (*standard error, SE*) и 95% интервал поузданости (*confidence interval, CI*) који се могу рачунати као што је дато у Једначинама 2.13 и 2.14 где је *Sd* стандардна девијација, $\bar{x}$ процењена вредност параметра и *N* број података.

$$SE = \frac{Sd}{\sqrt{N}} \qquad \text{Једначина 2.13}$$

$$CI = \bar{x} \pm 1.96 \cdot SE \qquad \text{Једначина 2.14}$$

---

[*] Akaike Hirotugu (1927. – 2009.) – јапански статистичар

За фармакокинетичке податке се обично могу постићи вредности *SE* < 30% за сталне ефекте и < 50% за случајне ефекте (95).

Индивидуалне вредности параметара добијене применом *EBE* имају тенденцију да се скупљају (*shrinkage*) ка типичним популационим вредностима и то η тежи 0 у односу на стварне вредности – скупљање у η ($\eta_{shrinkage}$) и *IPRED* теже измереним концентрацијама, па разлике међу њима теже 0 – скупљање у ε ($\varepsilon_{shrinkage}$) (97). Вредности скупљања веће од 20 – 30% указују на то да се процењене индивидуалне вредности параметара модела морају интерпретирати и користити са опрезом (97). Скупљање у η и ε се може проценити Једначинама 2.15 и 2.16 где су $Sd\eta_{EBE}$ стандардна девијација индивидуално процењених вредности η и Sd_{IWRES} стандардна девијација индивидуалних пондерисаних резидуала (*individual weighted residuals, IWRES*) (97).

$$\eta_{shrinkage} = 1 - \frac{Sd_{\eta_{EBE}}}{\varpi} \qquad \text{Једначина 2.15}$$

$$\varepsilon_{shrinkage} = 1 - Sd_{IWRES} \qquad \text{Једначина 2.16}$$

Графичка процена заузима важно место у процесу процене модела и подразумева визуелну опсервацију различитих графика од којих сваки има свој значај у процесу процене адекватности и ваљаности модела (92, 94-96, 98, 101, 102). Најчешће коришћени графици у популационој анализи јесу:

- зависност измерених концентрација које су зависна промењива (*dependent variable, DV*) и популационих предвиђених концентрација (*PRED*) – *DV vs. PRED* – показује свеукупни тренд података и степен варијабилности. Треба да садржи регресиону и линију идентичности (92, 96, 102);
- зависност *DV* и индивидуалних предвиђених концентрација (*IPRED*) – *DV vs. IPRED* – као и *DV vs. PRED* приказује се са регресионом и линијом идентичности, а обично показује боље слагање јер узима у обзир интериндивидуалну варијабилност (92);
- зависност пондерисаних разлика између измерених и популационо предвиђених концентрација (*weighted residuals, WRES*) од *PRED* – *WRES vs. PRED* – би требало бити са симетрично распоређеним

вредностима око *WRES* = 0 и да већина тачака буде у опсегу вредности *WRES* од -3 до 3 (92, 95). Када се као метрод процене користи *FOCE*, препорука је да се уместо *WRES* користе кондиционални пондерисани резидуали (*CWRES*) (103).

- зависност *WRES*, односно *CWRES* ако је метод процене *FOCE*, од времена (*TIME*) – *WRES vs. TIME* односно *CWRES vs. TIME* – би требало бити по облику као и *WRES* (*CWRES*) *vs. PRED*, понекад је једноставније интерпретирати јер се лако уочава у којим временима модел добро или лоше фитује. Овај график се користи за процену адекватности структуралног модела (92, 95).
- зависност апсолутних вреднсоти *IWRES* (I*IWRES*I) од *IPRED* – I*IWRES*I *vs. IPRED* – је график којим се врши процена адекватности одабраног модела за описивање резидуалне грешке. Ако је одабрани модел одговарајући, линија зависности је равна, без тренда. Ако са порастом *IPRED* расту и I*IWRES*I вероватно је да је коришћен адитивни модел за грешку уместо пропорционалног, а ако I*IWRES*I опада са порастом *IPRED*, вероватно је потребно користити адитивни модел, а не пропорционални (92).

2.3.2. Тестирање коваријата и дефинисање финалног модела

Идентификација и квантификација утицаја фактора варијабилности на неки од фармакокинетичких параметара и на тај начин смањење интериндивидуалне варијабилности у вредностима параметра у оквиру популације јесте један од основних циљева популационе фармакокинетичке анализе.

На самом почетку тестирања утицаја различитих фактора и развоја модела поставља се питање утицаје којих коваријата све тестирати и на које параметре. Приступ тестирања свих могућности није рационалан. Логична стратегија била би анализа података којима се располаже, проучавање популације пацијената чији подаци се анализирају и фармакокинетичких карактеристика лека за који се жели развити модел са циљем идентификације карактеристика пацијената за које се очекује да утичу на фармакокинетику датог лека (92, 95). Осим тога, често примењивана стратегија је и графичка анализа зависности индивидуалних вредности случајних ефеката из основног модела добијених применом *EBE* и вредности потенцијалних коваријата (83).

Утицај коваријата се може тестирати кроз различите моделе. Континуиране коваријате се често тестирају кроз линеарни или степеновани модел који су приказани у Једначинама 2.17 и 2.18 где је са *COV* означена коваријата, а θ_1 је фактор утицаја коваријате (95).

$$\theta = 1 + COV \cdot \theta_1 \qquad \text{Једначина 2.17}$$

$$\theta = COV^{\theta_1} \qquad \text{Једначина 2.18}$$

Континуиране коваријате се у моделима обично или центрирају (Једначина 2.19) или нормализују (Једначина 2.20) на просечну вредности из података ($\overline{COV}$) или референтну вредност за дату коваријату (95).

$$\theta = 1 + \left(COV - \overline{COV}\right) \cdot \theta_1 \qquad \text{Једначина 2.19}$$

$$\theta = \left(\frac{COV}{\overline{COV}}\right)^{\theta_1} \qquad \text{Једначина 2.20}$$

Категоричке коваријате бинарног типа се најчешће моделују према Једначини 2.21 где *COV* може да узме вредности 1 или 0, а ако је коваријата мултиплог типа и има више вредности, свакој се додељује индикаторска варијабла (1, 2, 3 …) и фармакокинетичком параметру се додељује вредност за сваку вредност коваријате (за $COV=1$ $\theta=\theta_1$, за $COV=2$ $\theta=\theta_2$ итд.)

$$\theta = \theta_1^{COV} \qquad \text{Једначина 2.21}$$

Најчешће примењивана техника у тестирању коваријата и развоју модела јесте степеновано грађење модела (*stepwise covariate model building, scm*) (104). Овај приступ подразумева тестирање коваријата, једне по једне, додавањем у модел кроз „кораке унапред“ и одбацивањем из модела кроз „кораке уназад“ (83, 92, 94).

Кроз „кораке унапред“ тестирају се једна по једна коваријата и задржавају у моделу оне које се покажу статистички значајним, тј. чије додавање у модел доводи до статистички значајног смањења у вредности *OFV*. Значајност смањења *OFV* процењује се χ^2 тестом. Модел у који се додавањем коваријата не постиже више статистички значајно смањење *OFV* назива се потпуни (*full*) модел. Кроз „кораке уназад“ се из потпуног модела искључују коваријате чије искључивање не доводи до значајног повећања *OFV* при чему се за процену значајности користи исти тест као и у „корацима унапред“ али строжији критеријум. Модел из кога искључивање ма које коваријате не доводи до значајног повећања *OFV* сматра се финалним моделом. Овај процес се може вршити или мануелно или неком од аутоматизованих техника (83, 92, 94).

Осим саме статистичке значајности, приликом одлуке да се нека коваријата задржи у моделу, треба водити рачуна да ли је то оправдано и са аспекта клиничке значајности, као и да ли се њен утицај на дати фармакокинетички параметар може објаснити и образложити неким биолошким, физиолошким или фармаколошким принципом. Додатно, уколико је више коваријата укључено у модел требало би утврдити да не постоји корелација међу њима (95).

Развијени финални модел се процењује по критеријумима који су слични као и за основни модел и то су (83, 92, 95-98, 103):

- успешна минимизација;
- број значајних места ≥ 3;
- статистички значајно смањење *OFV* у односу на основни модел;
- одстуство значајног скупљања у η и ε;
- смањење вредности интериндивидуалне варијабилности у односу на основни модел;
- што нижа вредност резидуалне варијабилности;
- процена параметара са адекватном прецизношћу (што нижа *SE*);
- адекватност стандардних графика;
- клиничка релевантност добијеног модела.

2.3.3. Технике валидације популационог модела

Једном развијен популациони фармакокинетички модел потребно је валидирати да би се проценила његова исправност и стабилност, а то се може урадити применом техника интерне или екстерне валидације (84, 92, 94, 96, 105).

Екстерна валидација подразумева употребу независне групе података са циљем провере предиктивних карактеристика модела (92). Као параметри за процену предиктивности развијеног модела рачунају се средња грешка предвиђања (*mean prediction error, MPE*) и корен из квадрата средње грешке предвиђања (*root mean squared prediction error*, *RMSPE*) (106). Наведени параметри се рачунају као што је дато у Једначинама 2.22 и 2.23.

$$MPE = \frac{1}{n} \cdot \sum_{i=1}^{n} (DVi - PREDi) \qquad \text{Једначина 2.22}$$

$$RMSPE = \sqrt{MPE} \qquad \text{Једначина 2.23}$$

MPE се сматра параметром за процену тачности и сматра се да је предвиђање тачно ако 95% *CI* за *MPE* укључује 0 (106). *RMSPE* се користи за процену прецизности и што је мања вредност овог параметра то је предвиђање модела прецизније (106).

Интерна валидација је техника валидације која се заснива на подели података (*data splitting*), формирању нових скупова података принципом изостављања или селекције и понавља (*cross validation, bootstrapping*) или симулацији на основу оригиналних података и модела (*predictive checks*) (84, 92, 96, 105, 107).

Bootstrapping је једна од најчешће коришћених техника интерне валидације. Ова техника подразумева фитовање модела на више сетова података који су добијени из оригиналних података (92). Број сетова података који се креирају зависи од циља употребе методе и обично је ≥ 200 (105). *Bootstrapping* метода подразумева следеће (92):

- генерисање сета података који је исте величине као и оригинални сет. *Bootstrap* сет података се добија случајним избором и копирањем података за неког испитаника из оригиналног сета и понављањем поступка онолико пута колико испитаника има у оригиналном сету.

- претходни поступак се понавља онолико пута колико се жели формирати *bootstrap* сетова података;
- модел се фитује на сваки од *bootstrap* сетова података;
- сумирају се информације о успешности фитовања за све сетове;
- рачунају се средња вредности, медијана, минимум, максимум, 95%*CI* за сваки од параметара модела на основу резултата добијених за *bootstrap* сетове података за које је фитовање модела било успешно;
- пореде се резултати добијени из оригиналног сета података и из *bootstrap* сетова података.

Визуелна процена предиктивности (*visual predictive check – VPC*) и нумеричка процена предиктивности (*numerical predictive check – NPC*) су методе интерне валидације које се заснивају на симулацији на основу модела и оригиналних података. *VPC* методом се графички пореде оригинални подаци и интервали предвиђања добијени на основу симулираних података (96). Ако се зависна варијабла (мерене концентрације) нормализује у односу на медијану популационо предвиђених вредности као и популациону варијабилност, добија се предикционо и за варијабилност коригована визуелна процена предиктивности (*prediction- and variability-corrected visual predictive check – pvcVPC*) која се показала бољом методом за процену у различитим ситуацијама, нарочито онима где су подаци који су анализирани пореклом из *TDM* – а (108). *NPC* методом се израчунавају делови мерених концентрација које су ван интервала предвиђања и пореде се са очекиваним вредностима (96).

3. Циљеви истраживања

Циљеви истраживања у оквиру докторске дисертације били су:

1. идентификација и квантификација фактора фармакокинетичке варијабилности такролимуса и сиролимуса и развој популационих модела применом технике нелинеарног моделовања комбинованих ефеката;

2. валидација развијених популационих модела за такролимус и сиролимус применом техника интерне и / или екстерне валидације;

3. евалуација могућности корекције дозирања такролимуса на основу идентификованих и квантификованих фактора варијабилности и развијеног популационог модела;

4. процена могућности примене развијеног модела и процењених фактора варијабилности у корекцији дозе сиролимуса.

4. Методологија истраживања

Етички комитет Клиничког центра Србије, Београд одлуком број 2724/4 од 23.02.2012. одобрио је протокол испитивања.

4.1. Пацијенти и протокол истраживања

У истраживање су били укључени одрасли пацијенти Клинике за нефрологију, Клиничког центра Србије, Београд, којима је трансплантиран бубрег и који су на комбинованој имуносупресивној терапији која укључује и један од испитиваних имуносупресивних лекова. Сви коришћени подаци су добијени ретроспективно, из медицинске документације пацијената и део су рутинског праћења пацијената у посттрансплантационом периоду. Прикупљени подаци укључивали су демографске карактеристике (пол, старост, телесна маса), тип трансплантације и датум када је извршена, податак о претходном трајању дијализе, биохемијске параметре и клиничке податке, као и податке о целокупној терапији коју пацијент примењује. Дефинисани период праћења за све пацијенте је био приближно годину дана од момента увођења терапије такролимусом или сиролимусом.

4.1.1. Терапија такролимусом

У истраживање су укључени пацијенти којима је такролимус био део стартне имуносупресивне терапије. Критеријум за искључивање био је увођење такролимуса након терапије циклоспорином или сиролимусом.

Сви пацијенти укључени у истраживање су уз такролимус (*Prograf*®, *Astellas Ireland CO. LTD.*), као део тројне имуносупресивне терапије добијали и микофенолат мофетил и кортикостероид (метилпреднизолон или преднизолон). Према протоколу дозирања Центра за трансплантацију, Клинике за нефрологију, Клиничког центра Србије, препоручена иницијална доза такролимуса била је 0,3 *mg/kg* дневно. Након иницијалне дозе, такролимус је дозиран према мереним концентрацијама, тако да се постигну жељене вредности, и на основу клиничке процене ефикасности и безбедности. Жељени терапијски распони за такролимус се према локалном протоколу разликују у зависности од периода након трансплантације. Тако, у периоду прве две недеље након трансплантације жељене вредности концентрација такролимуса су 15 – 20 *ng/mL*, до краја првог посттрансплантационог месеца циљане вредности су 10 – 15 *ng/mL*, а након тога се лек дозира тако да концентрације буду у распону 7 – 10 *ng/mL*.

4.1.2. Терапија сиролимусом

Према локалном протоколу сиролимус је имуносупресивни лек друге линије и сви пацијенти су конвертовани са претходно примењиваног лека (циклоспорин и/или такролимус) на терапију сиролимусом. У студију нису укључени пацијенти који су пре конверзије на сиролимус већ били конвертовани са циклоспорина на такролимус или обратно.

У свих испитиваних пацијената имуносупресивна терапија се састојала од сиролимуса (*Rapamune*®, *Pfizer Ireland Pharmaceuticals*), микофенолат мофетила и преднизолона. Увођење сиролимуса је отпочињано дозом од 10 – 12 *mg* дневно уз истовремено искључивање калцинеуринских инхибитора. Препоручена доза сиролимуса за период од другог до петог дана од отпочињања терапије је 4 – 8 *mg* дневно. Након тог периода дозе сиролимуса су прилагођаване на основу клиничке процене ефикасности и безбедности и мерених концентрација лека, тако да се постигне распон 8 – 20 *ng/mL*.

4.2. Добијање узорака биолошког материјала и бионалитичке методе

Подаци о вредностима измерених концетрација су део података добијених рутинским праћењем терапије и преузети су из медицинских картона.

Такролимус и сиролимус су лекови за које се рутински спроводи *TDM* на Клиници за нефрологију, Клиничког центра Србије. Према протоколу за *TDM* ових лекова, рутински се мере C_{trough}, у узорку пре узимања јутарње дозе лека. Мерење концентрација такролимуса вршено је различитом учесталошћу непосредно након трансплантације (2 – 3 пута недељно у току прве две недеље, а затим сваке недеље у првих месец до два) и у наредном периоду (на две недеље или месечно), наравно у складу са клиничким стањем пацијента. Мерење концентрација сиролимуса било је нешто фреквентније непосредно након увођења лека у терапију у односу на наредни период.

Као биолошки материјал за одређивање концентрација оба лека користи се пуна крв. Одређивање концентрација врши се комерцијално доступним тестовима *Architect Tacrolimus*® и *Architect Sirolimus*®, *Abbot Laboratories* који су по типу хемилуминосцентни микрочестични имунотестови (*CMIA*). Све концентрације у протоколима за дозирање лекова базиране су на оваквом начину одређивања.

Концентрације такролимуса и сиролимуса мере се у складу са препорукама произвођача. Према упутству произвођача мерни опсег за обе методе (*CMIA* за такролимус и *CMIA* за сиролимус) је 2 – 30 *ng/mL*. Концентрације које превазилазе дефинисани распон могу се мерити уз разблаживање узорка по упутству датом у сажетку карактеристика производа. *Architect*® тестови су дизајнирани тако да имају прецизност ≤ 10% и тачност, изражену као *Recovery*, 100 ± 10% у односу на очекивану вредност. *Architect Tacrolimus*® има лимит детекције ≤ 1,5 *ng/mL*, док је најнижа концентрација сиролимуса која се *Architect Sirolimus*® тестом може детектовати ≤ 1 *ng/mL*.

Коефицијент корелације између *Architect*® тестова и *IMx Tacrolimus II*®, *IMx Sirolimus*® и *LC/MS/MS*, за узорке концентрација 2 - 30 *ng/mL* је ≥ 0,90.

4.3. Популациона фармакокинетичка анализа

Популациона фармакокинетичка анализа спроведена је техником нелинеарног моделовања комбинованих ефеката. За анализу је коришћен софтвер *NONMEM*® (верзије 7.2. и 7.3., *Icon Development Solutions, Ellicott City, MD, SAD*) повезан са компајлером *Fortran G77*[*] (94). За развој модела, евалуацију развијених модела и различита графичка представљања коришћени су помоћни софтверски пакети као што су *Perl-speaks-NONMEM (PsN)*® (верзије 3.5.3; http://psn.sourceforge.net/), *Xpose*® (верзије 4; http://xpose.sourceforge.net/), *R*® (ver. 2.15.0; http://r-project.org/) и *Pirana*® (верзије 2.5.0; http://www.pirana-software.com/) (109). *NONMEM*® од корисника захтева детаљна упутства од корисника о томе како да чита податке, који модел да примени, које опције да активира и које и какве излазне извештаје (*outputs*) да формира. Да би се отпочела анализа употребом овог софтвера потребно је припремити одређена документа, документ са подацима које треба анализирати и документ у коме се налазе упутства за софтвер (94).

Документ са подацима се може правити у различитим софтверима, али да би га *NONMEM*® прочитао мора бити са екстензијом *csv*[†]. Документи са подацима за анализу такролимуса и сиролимуса припремани су у *Microsoft*® *Office Excel 2003 (Microsoft Corporation, Redmond, WA, SAD)* и меморисани као *csv* документа. У документу са улазним подацима не сме бити празних поља, тако да ако вредности за неке параметре који се желе испитати недостају потребно је доделити им неку вредност. Начин доделе вредности недостајућим подацима за

---

[*] *Fortran* (скраћеница од ***For****mula* ***Tran****slating System*) је програмски језик развијен од стране *IBM-a* и намењен превасходно за математичка и научна израчунавања.

[†] *CSV – comma separated values*

анализу такролимуса и сиролимуса описан је у наставку. Пример документа са подацима дат је у прилогу 4.

Документа у којима се налазе упутства за софтвер тзв. модел фајлови за анализу такролимуса и сиролимуса (примери за финалне моделе) дати у прилозима 5. и 6.

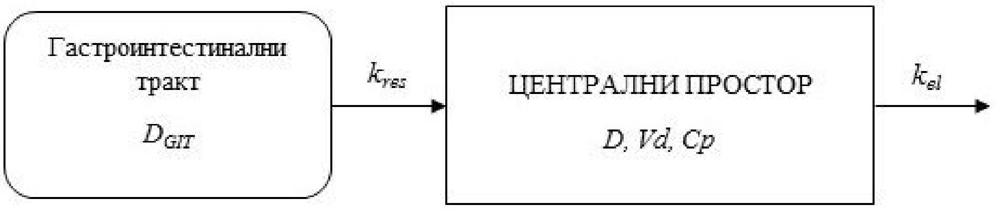
Први корак у анализи оба лека био је развој основног модела. Развој основног модела подразумева дефинисање структуралног модела, модела за интериндивидуалну грешку, као и модела којим се описује резидуална грешка. За процену параметара коришћен је *FOCEI* метод у складу са препорукама које су описане у тачки 2.1. Избор структуралних модела описан је у наставку засебно за оба лека. Интериндивидуална варијабилност је описана експоненцијалним моделом (Једначина 2.5), за описивање резидуалне варијабилности тестирани су адитивни, пропорционални и комбиновани модел (Једначине 2.7, 2.8 и 2.9), а избор одговарајућег модела је спроведен као што је описано у Уводу, у тачки 2.3.1.

Анализа података добијених ретроспективно обично подразумева анализу оскудних података. У овом истраживању, за оба лека, ретроспективно су прикупљани подаци добијени рутинским мониторингом и све концентрације су одговарале минималним концентрацијама. Прикуљени подаци су по својој природи одговарали подацима добијеним дизајном узорковања *multiple-trough sampling design*, описаном у тачки 2.1. Сходно таквој природи података анализа је могућа само уз инкорпорирање екстерних, већ познатих података. Екстерни подаци се могу увести у модел или кроз фиксирање вредности параметара који се не могу проценити са адекватном тачношћу и прецизношћу на очекиване вредности, или коришћењем претходно познатих података о вредностима параметара и њиховој варијабилности кроз примену приступа заснованих на Бејзовом приступу (79, 110). При избору структуралног модела може се ићи на упрошћавање модела и избор најједноставнијег, најчешће у комбинацији са фиксирањем вредности параметара или се може покушати са коришћењем сложенијег модела уз коришћење претходно познатих вредности параметара и њихове варијабилности.

У следећем кораку испитивани су утицаји потенцијалних коваријата на вредности *CL/F* лекова. Након развијања финалног модела, процене његове адекватности према наведеним критеријумима у тачки 2.3.2, спроведена је валидација добијених модела применом неких од техника интерне или екстерне валидације описаних у тачки 2.3.3. Детаљни аспекти методологије моделовања података за такролимус и сиролимус дати су у даљем тексту.

4.3.1. Развој и валидација модела за такролимус

Зависност концентрација од времена за такролимус описана је најједноставнијим моделом, једнопросторним фармакокинетичким моделом са линеарним процесима ресорпције и елиминације. Шематски приказ овог модела приказан је на Слици 4.1.



Слика 4.1 Шематски приказ једнопросторног фармакокинетичког модела при *p.o.* примени лека. Vd – волумен дистрибуције; D – количина лека у централном простору (организму); D_{GIT} – количина лека у гастроинтестиналном тракту; k_{res} – константа брзине ресорпције; k_{el} – константа брзине елиминације лека из централног простора; Cp – концентрација лека у централном простору (организму).

Приказани фармакокинетички модел се може приказати и Једначином 4.1:

$$\frac{dD}{dt} = \frac{dD_{GIT}}{dt} - \frac{dD_{el}}{dt} \qquad \text{Једначина 4.1}$$

где $\frac{dD}{dt}$ представља промену количине лека у времену, $\frac{dD_{GIT}}{dt}$ брзину ресорпције и $\frac{dD_{el}}{dt}$ брзину елиминације. Решавањем Једначине 4.1 добија се математички модел за једнопросторни фармакокинетички модел лека након *p.o.* примене:

$$Cp_t = \frac{F \cdot Do \cdot k_{res}}{Vd \cdot (k_{res} - k_{el})} \cdot \left(e^{-k_{el} \cdot t} - e^{-k_{res} \cdot t}\right) \qquad \text{Једначина 4.2}$$

где су Cp_t – концентрација лека у плазми у времену t, F биолошка расположивост лека и Do – примењена доза.

У *NONMEM*® софтверу овакав модел је инкорпориран у субрутину *ADVAN2/TRANS2 PREDPP*, па је она и коришћена у анализи такролимуса (94). Алтернативном параметризацијом математичког модела датог Једначином 4.2 и коришћењем ове субрутине могуће је, на основу Једначине 4.3 проценити и *CL/F* као параметар елиминације.

$$CL/F = Vd/F \cdot k_{el} \qquad \text{Једначина 4.3}$$

Како су све измерене концентрације биле део рутинског праћења и одговарале минималним концентрацијама које дефинишу процес елиминације лека, то се њиховом анализом могао, са адекватном тачношћу и прецизношћу, проценити само параметар елиминације тј. *CL/F* (110, 111). У случају анализе података за такролимус користио се приступ фиксирања вредности *Vd/F* и k_{res} на литературне вредности. Вредности k_{res} и k_{el} су процењене на основу Једначине 4.4 и Једначине 4.5 и просечних литературних вредности за t_{max} и $t_{1/2}$ (110, 112)

$$t_{\max} = \frac{\ln\left(k_{res}/k_{el}\right)}{k_{res} - k_{el}} \qquad \text{Једначина 4.4}$$

$$t_{1/2} = \frac{\ln 2}{k_{el}} \qquad \text{Једначина 4.5}$$

Подаци за такролимус за период до просечно 6 месеци након трансплантације су анализирани независно од података за период од око годину дана након трансплантације тј. засебно су анализирани подаци за рани посттрансплантациони период и подаци за период када је постигнуто стабилно стање пацијената.

4.3.1.1. Анализа података за рани посттрансплантациони период, развој и валидација модела за такролимус

У анализи података за рани посттрансплантациони период литературне вредности за *Vd/F* и k_{res} на које су били фиксирани ови параметри у току моделовања биле су 0,68 *L/kg* и 1,3 h^{-1} (21). До вредности за k_{res} се дошло применом Једначине 4.4 и литературних вредности за t_{max} и $t_{1/2}$ од 2,5 *h* и 15,6 *h* (12, 21, 110, 112). У разматрање за испитивње утицаја на *CL/F* узети су следећи фактори варијабилности: *PDAY*, укупна телесна маса (*WT*), старост (*AGE*), порекло трансплантираног органа – живи или кадаверични донор (*GRFT*), пол (*GEND*), присуство дијализе пре трансплантације (*DIAL*), ниво серумског креатинина (*SECR*), *HCT*, ниво укупних протеина плазме (*UP*), ниво алкалне фосфатазе (*ALP*), ниво аспартат-аминотрансферазе (*AST*), ниво аланин-аминотрансферазе (*ALT*), истовремена примена микофенолат мофетила (*MMF*) и истовремена примена кортикостероида (*KORT*). За неке коваријате су недостајале вредности за нека времена када су мерене концентрације лека па су им одговарајућим методама додељене вредности. Тако, за све коваријате за које је недостајало < 10% података, метод доделе вредности фактору био је коришћење вредности медијане за дати фактор, рачунате по дану трансплантације, док је за коваријате за које је недостајало > 10% података коришћен метод преписивања последње измерене вредности (*last-observation carried forward – LOCF*) (83, 113). Подаци су недостајали за *SECR* (0,3%), *HCT* (2,1%), *UP* (6,8%), *ALP* (29,46%), *AST* (28,26%) и *ALT* (28,51%). Тестирање коваријата је рађено аутоматски кроз опцију *scm* софтвера *PsN*®. *Scm* подразумева принцип уврштавања коваријате са највећим значајем у модел и тестирање осталих коваријата у односу на формирани субмодел. У сваком наредном кораку се формира нови субмодел додавањем најзначајније коваријате на основу смањења *OFV* вредности, све док се не формира потпуни модел. Након формирања потпуног модела следи тзв. „корак уназад“ тј. избацивање једне по једне коваријате које не покажу задовољавајући ниво значајности који се огледа кроз пораст *OFV* вредности. Финалним моделом се сматра онај из кога су искључене све коваријате које нису задовољиле наведени критеријум (114). За употребу аутоматизоване опције *scm* потребно је припремити конфигурациони документ у коме се јасно дефинишу жељени нивои значајности, утицај којих коваријата се жели испитати, у којим релацијама и на који фармакокинетички параметар. У овој анализи су били задати нивои значајности $p<0{,}05$ за укључивање фактора утицаја у модел, тј. смањење *OFV* за најмање 3,84 и за „корак уназад“ $p<0{,}01$, што одговара порасту *OFV* за минимално 6,63 при искључивању испитиване коваријате. Анализиран је утицај одабраних коваријата на *CL/F* такролимуса. Избор коваријата чији утицај је испитиван кроз *scm* вршен је на основу познатих информација о фармакокинетици лека, очекиваних утицаја на основу прегледа литературе, као и на основу односа индивидуалних вредности случајних ефеката из основног модела добијених применом *EBE* и вредности коваријата (постојање тренда у односу је био сигнал за даље испитивање фактора варијабилности). Испитивани су линеарни и степеновани модели за континуиране коваријате (*PDAY, WT, AGE, HCT*, *UP*, *ALP*, *AST*, *MMF* и *KORT*). У прилогу број 7 дат је коришћени конфигурациони фајл за *scm*.

Добијени финални модел валидиран је применом техника интерне валидације *Bootstrapping* и *pvcVPC* (107, 108). *Bootstrapping* је рађен прављењем 1000 репликата, а *pvcVPC* је добијен на основу 1000 симулација.

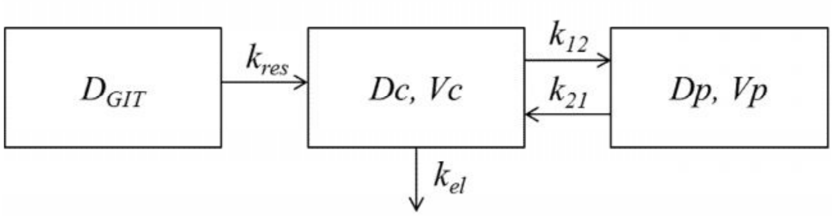
4.3.1.2. Анализа података за касни посттрансплантациони период (приближно годину дана након трансплантације), развој и валидација модела за такролимус

За анализу података за период од годину дана након трансплантације вредности Vd/F и k_{res} су фиксиране на 1,58 L/kg и 1,3 h^{-1} (12, 21). Вредност за k_{res} је израчуната из Једначине 4.4, уз коришћење литературних вредности за t_{max} и $t_{1/2}$ од 15,6 *h* и 2,5 *h* (12, 21, 110, 112). Као фактори варијабилности разматрани су W*T*, *AGE, GRFT, GEND, DIAL, SECR, HCT, UP, ALP, AST, ALT, MMF, KORT*, а анализирани су и утицаји истовремено примењиваних осталих лекова, као и дневна доза примењеног такролимуса (*DTAC*). Од истовремено примењиване терапије пацијенти су користили ацетилсалицилну киселину, диклофенак натријум, диуретике, *ACE* инхибиторе, блокаторе канала за калцијум, β блокаторе, оралне антидијабетике, инсулин, статине, клопидогрел, ранитидин, омепразол, бензодиазепине, аминофилин, алопуринол, амоксицилин, цефалоспорине, доксазосин, фолну киселину, препарате гвожђа и калцијума и витамине. Избор фактора варијабилности који су тестирани као коваријате, изузев истовремено примењиване терапије, вршен је као и за рани посттрансплантациони период, како је описано у делу 4.3.1.1. Избор истовремено примењиваних лекова који су тестирани као коваријате извршен је прегледом *Lexicomp*® базе. Тестирани су лекови који према овој бази ступају у фармакокинетичке интеракције са такролимусом и могу бити значајне (категорије Ц – пратити терапију и Д – размотрити промену терапије према овој бази). Тако су као категоричке коваријате тестирани истовремена примена верапамила или дилтиазема (*CBLOK*), дихидропиридинских блокатора канала за калцијум (*DIPIN*), ранитидина (*RANI*), омепразола (*OMEP*) и статина (*STAT*). Као категоричке коваријате тестирани су и *GEND* и истовремена примена *KORT* у дози већој од 7,5 mg. Као континуиране коваријате тестирани су *WT*, *HCT*, *UP*, *AST* и *DTAC*. Тестирање коваријата и развој финалног модела вршени су мануелно, по принципу *scm* методе (тачка 4.3.1.1). У „корацима унапред“ задржаване су коваријате чије је увођење у модел доводило до смањења *OFV* за најмање 3,84 (p < 0.05), а у „кораку уназад“ су задржаване оне коваријате чије је искључивање из модела доводило до повећања *OFV* за најмање 6,63 (p < 0,01) (94, 114).

Добијени финални модел валидиран је техникама интерне валидације *Bootstrapping* и *NPC* (96, 107). *Bootstrapping* је рађен на основу 1000 репликата, а *NPC* на основу 1000 симулација.

4.3.2. Развој и валидација модела за сиролимус

Приликом избора структуралног модела за сиролимус разматрани су једнопросторним и двопросторни фармакокинетички модели са линеарним процесима ресорпције и елиминације чији су шематски прикази дати на Сликама 4.1 и 4.2.



Слика 4.2 Шематски приказ двопросторног фармакокинетичког модела са линеарним процесима ресорпције и елиминације. Vc – запремина централног простора; Vp – запремина периферног простора; D_{GIT} – количина лека у гастроинтестиналном тракту; Dc – количина лека у ценралном простору; Dp – количина лека у периферном простору; k_{res} – константа брзине ресорпције; k_{el} – константа брзине елиминације лека из централног простора; k_{12} – константа брзине преласка лека из централног у периферни простор; k_{21} – константа брзине преласка лека из периферног у централни простор.

Модел приказан на Слици 4.2 се може приказати и Једначином 4.6.

$$Cp_t = \frac{k_{res} \cdot F \cdot Do}{Vc} \cdot \left(\begin{array}{l} \frac{k_{21} - \alpha}{(\beta - \alpha) \cdot (k_{res} - \alpha)} \cdot e^{-\alpha \cdot t} + \frac{k_{21} - \beta}{(\alpha - \beta) \cdot (k_{res} - \beta)} \cdot e^{-\beta \cdot t} \\ - \left(\frac{k_{21} - \alpha}{(\beta - \alpha) \cdot (k_{res} - \alpha)} + \frac{k_{21} - \beta}{(\alpha - \beta) \cdot (k_{res} - \beta)} \right) \cdot e^{-k_{res} \cdot t} \end{array} \right) \quad \text{Једначина 4.6}$$

где су Vc – запремина централног простора, k_{21} – константа брзине преласка лека из периферног у централни простор; α – хибридна константа за брзину расподеле; β – хибридна константа за брзину елиминације.

С обзиром на природу података и то да су све мерене концентрације одговарале минималним, као и у случају такролимуса, једино је било могуће проценити *CL/F* са адекватном тачношћу и прецизношћу (110, 111). Вредности параметара који нису процењивани су или фиксирани или су коришћене претходно познате вредности за параметре и њихову варијабилност, које су у модел укључене применом приступа инкорпорираног у софтвер *NONMEM*®, који је сличан Бејзовом приступу и заснива се на њему (94, 115). Као структурални модели су тестирани: једнопросторни модел са линеарном ресорпцијом и елиминацијом уз фиксирање *Vd/F* и k_{res} (*1-COMP*), једнопросторни модел са линеарном ресорпцијом и елиминацијом уз коришћење претходно познатих података о *Vd/F* и k_{res} и њиховој варијабилности (*1-COMPprior*) и двопросторни модел са линеарном ресорпцијом и елиминацијом уз коришћење претходно познатих података о k_{res}, оралном волумену централног простора (*Vc/F*), оралном волумену периферног простора (*Vp/F*), орални клиренс између простора (*Q/F*) и њиховој варијабилности (2-*COMPprior*). Вредности на које су били фиксирани *Vd/F* и k_{res} у моделу *1-COMP* су 13,5 *L/kg* и 2,2 h^{-1}. Вредност за k_{res} је израчуната према Једначини 4.4, применом литературних вредности за t_{max} и $t_{1/2}$ (73, 74). Као информативни подаци о вредностима параметара и њихових варијабилности у моделима *1-COMPprior* и 2-*COMPprior* коришћени су резултати група аутора Џао и сарадници и Данзирикул и сарадници (79, 80). Избор структуралног модела вршен је на основу критеријума *AIC* и *BIC* (95).

У следећем кораку разматрано је испитивање утицаја различитих коваријата на *CL/F*. Од континуираних коваријата анализирани су *WT*, *AGE*, *SECR*, *HCT*, *UP*, ниво укупног холестерола (*HOL*), ниво триглицерида (*TRIG*), *ALP*, *AST*, *ALT*, *MMF* и *KORT*. Коваријате *SECR*, *HOL*, *TRIG* и *AST* анализиране су и као категоричке. Трансформација континуираних варијабли у категоричке извршена је по принципу клинички нормалне вредности/повишене вредности. Као категоричке коваријате разматрани су и *GRFT*, *GEND* и *DIAL*. Подаци који су недостајали за *HCT* (1,6%) и *UP* (7,6%) додати су коришћењем вредности медијане за дати фактор. У случају коваријата за које је недостајало > 10% као што су, *HOL* (22,4%), *TRIG* (22,4%), *ALP* (12,8%), *AST* (12%) и *ALT* (12,4%), коришћен је метод *LOCF* (83, 113). Модели утицаја коваријата који су тестирани су линеарни и степеновани.

Утицај коваријата је испитиван по моделу на коме се заснива аутоматизовани *scm* метод, као што је описано у делу 4.3.1.1, али је вршен мануелно. Критеријум за задржавање коваријате у „корацима унапред“ било је смањење *OFV* за најмање од 3,84 ($p < 0,05$), а у „кораку уназад“ повећање *OFV* за најмање 6,63 ($p < 0,01$). Додатни критеријум за задржавање коваријата у финалном моделу било је смањење необјашњене интериндивидуалне варијабилности (94, 114).

Финални модел за сиролимус је валидиран техникама интерне и екстерне валидације. Техником интерне валидације *Bootstrapping*, на основу 1000 репликата, испитивана је тачност и робусност развијеног финалног модела (107), а његова предиктабилност је процењивана методама *pvcVPC* и *NPC* базираним на 1000 симулација (96, 108). Развијени финални модел је коришћен и за предикцију концентрација сиролимуса на основу демографских, биохемијских података и података о дозирању, у популацији пацијената укључених у групу за екстерну валидацију. У ову групу пацијената укључени су они пацијенти који су недавно конвертовани на сиролимус и за које је постојао мали број мерења концентрација лека (1 – 2 узорка по пацијенту). Статистичка анализа је урађена у софтверу *IBM SPSS Statistics*® (верзија 22; *NY; SAD*). Као параметри валидације рачунати су *MPE* са 95% *CI*, као и *RMSPE* (106).

5. Резултати истраживања

У оквиру овог поглавља приказани су резултати популационе анализе такролимуса и сиролимуса, идентификација фактора варијабилности ових лекова, развој, као и валидација добијених модела.

5.1. Резултати популационе фармакокинетичке анализе такролимуса

Део резултата приказаних у овом поглављу је објављен у часописима *European Journal of Pharmaceutical Sciences* и *Current Medicinal Chemistry* (33, 116).

5.1.1. Карактеристике испитиване популације пацијената

У истраживање је укључено 105 пацијената који су у оквиру комбиноване тројне имуносупресивне терапије примењивали такролимус, а нису задовољавали ниједан од критеријума за искључење из студије (методологија, део 4.1.1). За свих 105 пацијената прикупљани су подаци за период од 6 месеци након трансплантације док су подаци за период од око годину дана након операције прикупљани за њих 45. Демографске карактеристике пацијената у првих 6 месеци након трансплантације приказани су у Табели 5.1.

Табела 5.1 Демографске карактеристике пацијената на терапији такролимусом за првих 6 месеци након трансплантације

Карактеристика	**Број (%) / средња вредност ± стандардна девијација**	**Распон**
Пол	62 мушкарца (59) + 43 жене (41)	
Период након трансплантације (дани)	60 ± 48	0 – 206
Дијализа пре трансплантације	87 ДА (83) + 18 НЕ (17)	
Порекло органа	75 живи донор (71) + 30 кадавер (29)	
Старост (године)	39 ± 11	16 – 60
Телесна маса (*kg*)	68,41 ± 12,85	38 – 108
SEKR (*μmol/L*)	207,3 ± 328,02	57 – 1398
Хематокрит	0,31 ± 0,05	0,029 – 0,75
Укупни протеини (*g/L*)	63,23 ± 7,99	38 – 137
ALP (*IU/L*)	70,08 ± 29,54	6 – 214
AST (*IU/L*)	19,7 ± 23,22	4 – 414
ALT (*IU/L*)	32,92 ± 57,67	1 – 961

ALP – аланин-фосфатаза; *AST* – аспартат-аминотрансфераза; *ALT* – аланин-аминотрансфераза; *SEKR* – серумски креатинин

Табела 5.2 Имуносупресивна терапија пацијената у првих 6 месеци након трансплантације

ЛЕК	**Средња вредност ± стандардна девијација**	**Распон**
Таколимус		
Доза (*mg/дан*)	12,09 ± 6,24	1 – 40
C_{trough} (*ng/mL*)	11,66 ± 5,02	2.4 – 57.2
Микофенолна киселина (*mg/дан*)	1207,19 ± 463,56	0 – 2000
Кортикостероид (*mg/дан*)	37,63 ± 76,25	2,5 – 500

Свих 105 пацијената примењивали су комбинацију имуносупресива такролимуса, микофенолне киселине и кортикостероида. У првим данима након трансплантације пацијенти су добијали метилпреднизолон *i.v.*, да би након тога били конвертовани на преднизон *p.o.* Просечно време отпочињања терапије такролимусом било је 2,6 дана од трансплантације. Просечне дозе примењиваних имуносупресива, као и подаци о вредностима мерених концентрација такролимуса за првих 6 месеци након трансплантације приказани су у Табели 5.2.

Испитивање фактора варијабилности такролимуса у стабилних пацијената спроведено је у популацији од 45 пацијената чије је клиничко стање било стабилно након периода од око годину дана од трансплантације бубрега. Демографске карактеристике за ове пацијенте као и подаци о имуносупресивној терапији дати су Табели 5.3.

Табела 5.3 Демографске и карактеристике имуносупресивне терапије пацијената након периода од око годину дана од трансплантације

Карактеристика	**Број (%)/средња вредност ± стандардна девијација**	**Распон**
Пол	26 мушкараца (58) + 19 жена (42)	
Период након трансплантације (дани)	389 ± 34	328 – 470
Дијализа пре трансплантације	41 ДА (91) + 4 НЕ (9)	
Порекло органа	30 живи донор (67) + 15 кадавер (33)	
Старост (године)	41 ± 10	20 – 61
Телесна маса (*kg*)	69,78 ± 12,94	45 – 95
SEKR (*μmol/L*)	137,5 ± 39,21	81 – 310
Хематокрит	0,40 ± 0,06	0,28 – 0,58
Укупни протеини (*g/L*)	71,76 ± 3,70	63 – 80
AST (*IU/L*)	19,68 ± 6,96	9 – 41
ALT (*IU/L*)	23,84 ± 12,61	2 – 73
Такролимус		
Доза (*mg/дан*)	4,52 ± 2,26	1 – 11
C_{trough} (*ng/mL*)	6,69 ± 2,63	2,6 – 19,6
Микофенолна киселина (*mg/дан*)	1134,26 ± 270,05	750 – 2000
Кортикостероид (*mg/дан*)	8,49 ± 1,99	5 – 12,5

AST – аспартат-аминотрансфераза; *ALT* – аланин-аминотрансфераза; *SEKR* – серумски креатинин

Подаци о истовремено примењиваним лековима који су испитивани као фактори варијабилности у *CL/F* такролимуса за период од око годину дана након трансплантације приказани су у Табели 5.4.

Табела 5.4 Учесталост примене лекова који су испитивани као фактори варијабилности у елиминацији такролимуса за период од око годину дана након трансплантације

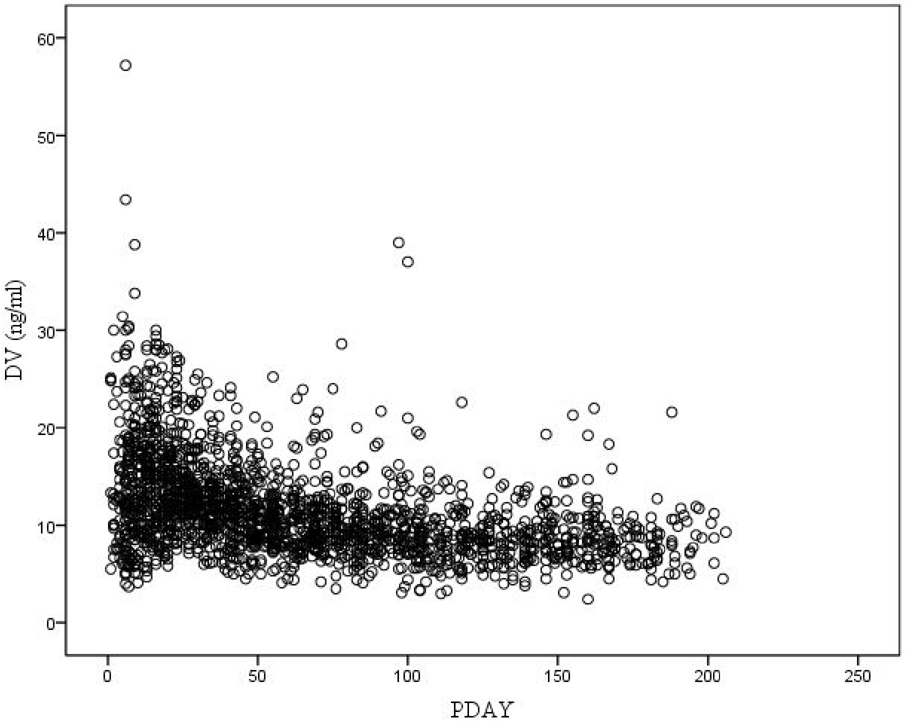
Лек / група лекова	**Бр. пацијената који су на терапији**	**Бр. измерених C_{trough} такролимуса у току терапије**
Дихидропиридински блокатори канала за калцијум	36	15
Ранитидин	20	43
Статини	6	13
Омепразол	4	9
Верапамил / дилтиазем	3	8

5.1.2. Испитивање фактора фармакокинетичке варијабилности такролимуса и развој популационог модела

За испитивање фактора фармакокинетичке варијабилности такролимуса примењени су принципи популационе фармакокинетичке анализе, односно технике нелинеарног моделовања комбинованих ефеката. Коришћен је софтвер *NONMEM*® (верзија 7.2., *Icon Development Solutions, Ellicott City, MD, SAD*).

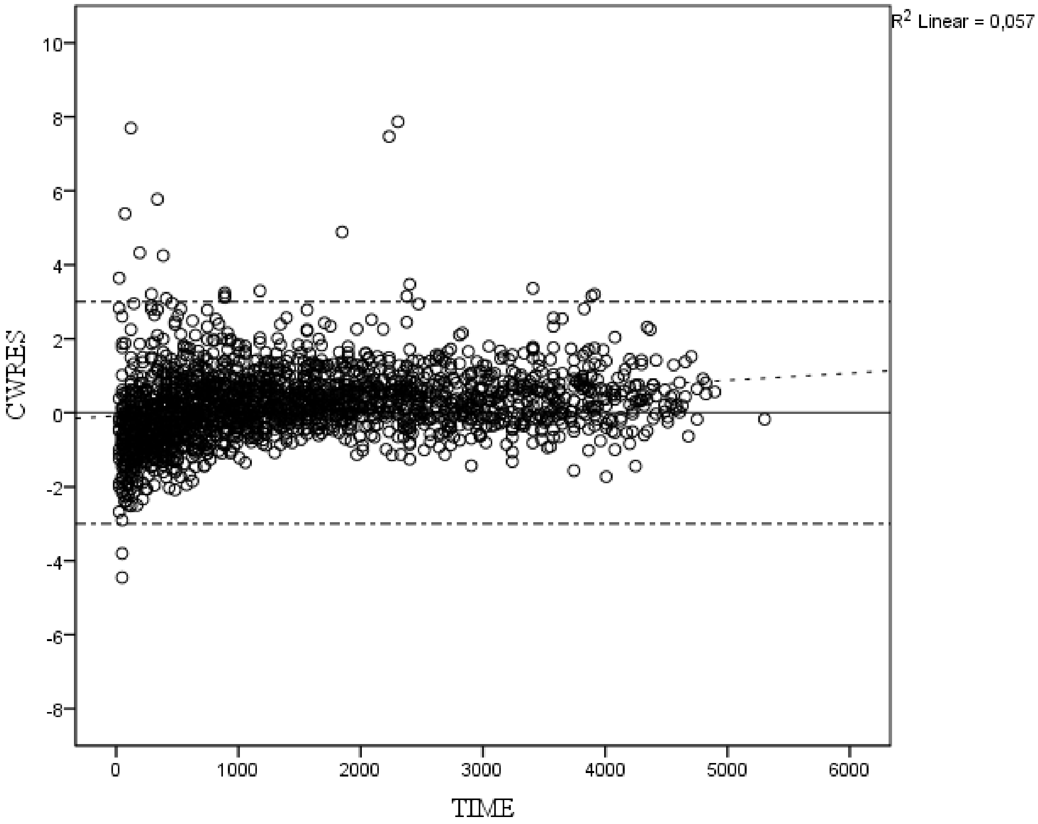
5.1.2.1. Испитивање фактора варијабилности такролимуса у првих шест месеци након трансплантације и развој модела

Прикупљени подаци од 105 пацијената су коришћени за моделовање и укључивали су 1999 измерених концентрација такролимуса. Сва мерења су рађена као део рутинског праћења и вршена су непосредно пре јутарње дозе, што значи да све концентрације одговарају C_{trough}. Зависност измерених концентрација такролимуса од времена израженог као број дана након трансплантације приказана је на Слици 5.1.



Слика 5.1 Измерене концентрације такролимуса (*DV*) у зависности од времена израженог као дани након трансплантације (*PDAY*) у раном посттрансплантационом периоду

Први корак у моделовању јесте дефинисање основног модела као што је и описано у тачки 4.3. Зависност концентрација од времена описана је једнопросторним фармакокинетичким моделом са линеарним процесима ресорпције и елиминације приказаним шематски на Слици 4.1 и дефинисаним математичким моделом датим у Једначини 4.2. Интериндивидуална варијабилност описана је експоненцијалним моделом (Једначина 2.5). График на основу кога се може проценити адекватност структуралног модела дат је на Слици 5.2. Резултати тестирања различитих модела за резидуалну грешку дати су у Табели 5.5. Графици на основу којих се може проценити ваљаност модела за резидуалну грешку дати су на Слици 5.3.



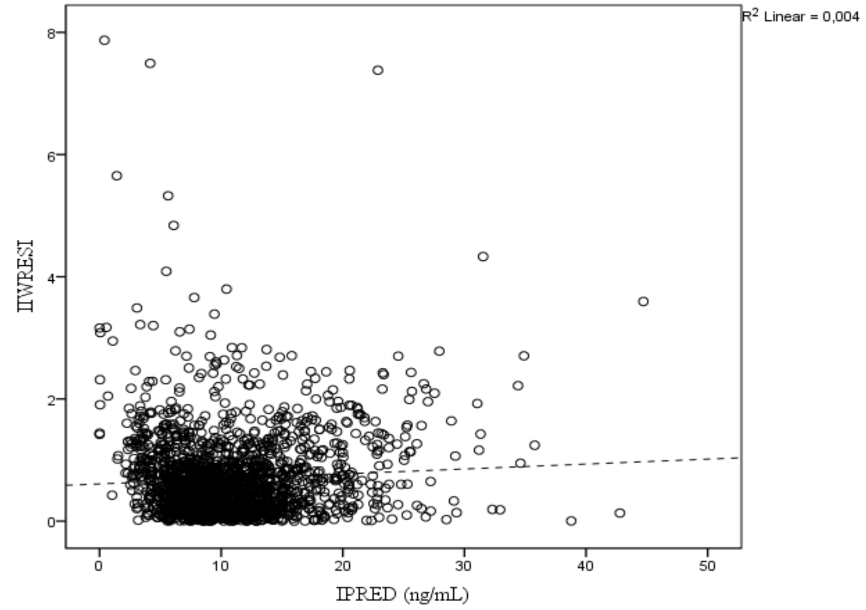
Слика 5.2 Зависност кондиционалних пондерисаних резидуала (*CWRES*) од времена (*TIME*) израженог у сатима од примене последње дозе за анализу такролимуса у раном посттрансплантационом периоду за основни модел

Табела 5.5 Карактеристике тестираних модела за резидуалну грешку у моделу такролимуса за рани посттрансплантациони период

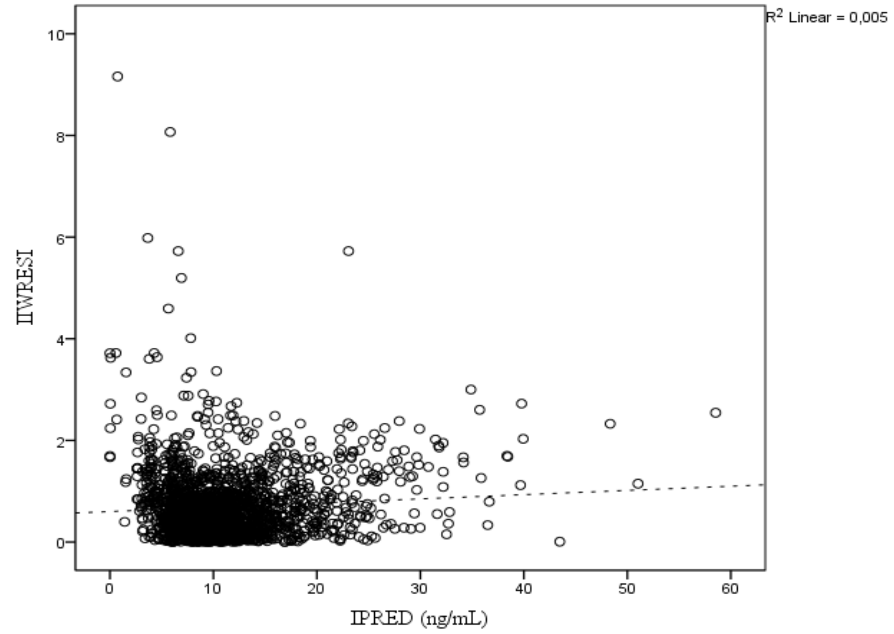
Параметар		**Модел резидуалне грешке**		
		Адитивни	**Пропорционални**	**Комбиновани**
Минимизација		Успешна	Неуспешна	Успешна
Број места значајности		4,1	-	4,4
OFV		8526	-	8455
$\theta_{CL/F}$ (*L/h*)	Процењена вредност	10,15	-	9,967
	SE	0,2128	-	0,2297
	95% *CI*	9,683 – 10,52	-	9,519 – 10,42
Интериндивидуална варијабилност, $\eta_{CL/F}$	$\omega^2_{CL/F}$ (*SE*)	0,04506 (0,006532)	-	0,05053 (0,008442)
	$CV_{CL/F}$ (%) (95% *CI*)	21,24 (17,97 – 24,06)	-	22,48 (18,43 – 25,89)
Скупљање у $\eta_{CL/F}$	$\eta_{shrinkage}$ (%)	0,9236	-	0,9236
Резидуална варијабилност, ε	*Wa* (*ng/mL*)	4,650	-	3,956
	Wp	0 FIX	-	-0,1936
Скупљање у ε	$\varepsilon_{shrinkage}$ (%)	4,855	-	4,855

OFV – објективна вредност функције; *SE* – стандардна грешка; FIX – вредност је фиксирана; $CV_{CL/F}$ – коефицијент варијације за интериндивидуалну варијабилност у вредностима оралног клиренса; ε – резидуална варијабилност; $\varepsilon_{shrinkage}$ – скупљање у ε; $\eta_{CL/F}$ – интериндивидуална варијабилност у вредности оралног клиренса; $\eta_{shrinkage}$ – скупљање у η; $\theta_{CL/F}$ – орални клиренс; $\omega^2_{CL/F}$ – варијанса свих интериндивидуалних варијабилности у вредности оралног клиренса; *Wa* – адитивна грешка; *Wp* – пропорционална грешка; 95% *CI* – 95% интервал поузданости

а)



б)



Слика 5.3 Зависност апсолутне вредности пондерисаних резидуала (I*IWRES*I) од индивидуалних предвиђених вредности концентрација (*IPRED*) за: а) адитивни модел и б) комбиновани модел резидуалне грешке у основном моделу за такролимус у раном посттрансплантационом периоду. Испрекидана линија представља регресиону линију.

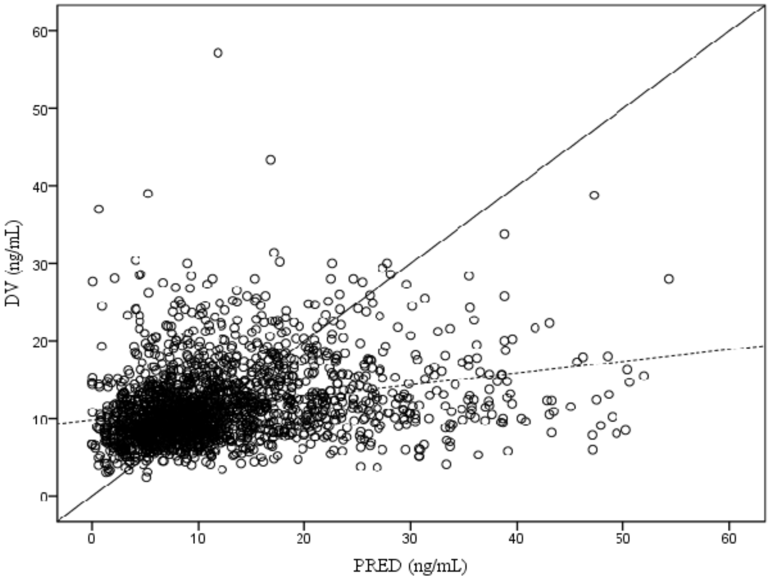
На основу приказаних резултата као основни модел изабран је, и даље коришћен, модел са линераним процесима ресорпције и елиминације, са фиксираним вредностима за *Vd/F* и k_{res}, у коме је за описивање интериндивидуалне варијабилности коришћен експоненцијални модел, а резидуална грешка је окарактерисана адитивним моделом. Број места значајности у дефинисаном основном моделу је 4,1, а *OFV* 8526. Основним моделом процењена је популациона вредност *CL/F* од 10,15 *L/h*, са интериндивидуалном варијабилношћу од 21,24% и резидуалном варијабилношћу од 4,65 *ng/mL* (Табела 5.6).

Табела 5.6 Параметри основног модела такролимуса за рани посттрансплантациони период

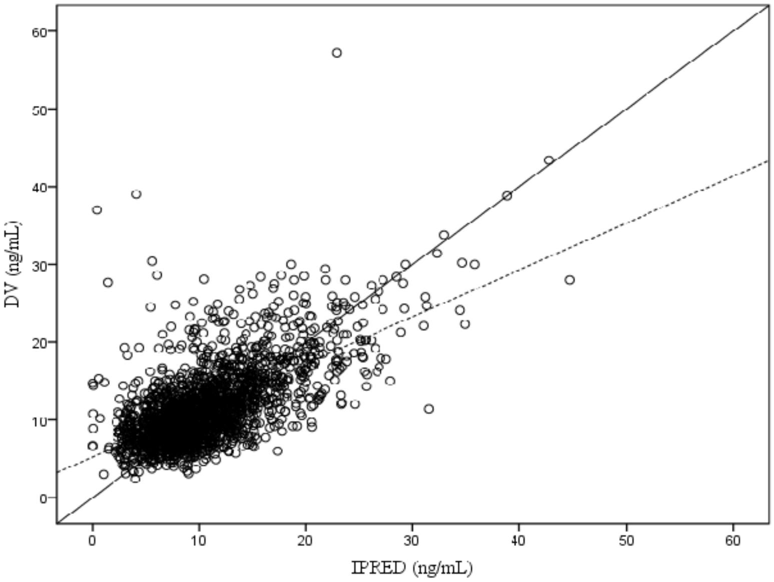
Параметар	**Процењена вредност**	***SE***	***95% CI***
OFV	8526	-	-
$\theta_{CL/F}$ **(*L/h*)**	10,15	0,2128	9,733 – 10,57
$\theta_{Vd/F}$ **(*L/kg*)**	0,68 FIX	-	-
θ_{kres} **(h^{-1})**	1,3 FIX	-	-
$\omega^2_{CL/F}$	0,04506	0,006532	0,03226 – 0,05786
$CV_{CL/F}$ **(%)**	21,24	-	17,97 – 24,06
***Wa* (*ng/mL*)**	4,650	0,2347	4,530 – 4,769
$\eta_{shrinkage}$ **(%)**	0,9236	-	-
$\varepsilon_{shrinkage}$ **(%)**	2,600	-	-
OFV - објективна вредност функције; *SE* – стандардна грешка; FIX – вредност параметра је фиксирана; $CV_{CL/F}$ - коефицијент варијације за интериндивидуалну варијабилност у вредностима оралног клиренса; $\varepsilon_{shrinkage}$ – скупљање у вредностима резидуалне варијабилности; $\eta_{shrinkage}$ - скупљање у вредностима интериндивидуалне варијабилности; $\theta_{Vd/F}$ – орални волумен дистрибуције; θ_{kres} – константа брзине ресорпције; $\theta_{CL/F}$ – орални клиренс; $\omega^2_{CL/F}$ – варијанса свих интериндивидуалних варијабилности у вредности оралног клиренса; *Wa* – адитивна грешка; *95% CI* – 95% интервал поузданости			

Основни графици који се могу користити за процену предвиђања развијеног модела, као и за делимичну процену његових карактеристика приказани су на Слици 5.4.

а)



б)



Слика 5.4 График зависности измерених (*DV*) и: а) популационих (*PRED*), б) индивидуално предвиђених концентрација (*IPRED*) за основни модел такролимуса за податке за период од 6 месеци након трансплантације. Пуна линија представља линију идентичности, а испрекидана регресиону линију.

У следећем кораку испитивани су утицаји различитих коваријата на претходно дефинисани основни модел. Тестиране коваријате одабране су као што је описано у делу 4.3.1.

Табела 5.7 Процес идентификације значајних фактора варијабилности *CL/F* такролимуса у раном посттрансплантационом периоду

Корак у анализи	**Модел за поређење (*OFV*)**	**Тестирани модел***	**Δ*OFV***	**Циљна вредност (значајност)**
Први „корак унапред“- тестирање свих фактора у односу на основни модел	Основни модел (8526)	*AGE* – 2	0,09800	> 3,84 (НЕ)
		ALP – 2	77,73	> 3,84 (ДА)
		AST – 2	25,41	> 3,84 (ДА)
		HCT – 2	275,3	> 3,84 (ДА)
		KORT – 2	40,04	> 3,84 (ДА)
		MMF – 2	8,325	> 3,84 (ДА)
		PDAY – 2	177,0	> 3,84 (ДА)
		WT – 2	245,7	> 3,84 (ДА)
		UP – 2	112,2	> 3,84 (ДА)
„Корак унапред“ – тестирање у односу на претходно одабрани подмодел	*HCT* – 2 (8251)	*AGE* – 2	0,2830	> 3,84 (НЕ)
		ALP – 2	11,59	> 3,84 (ДА)
		AST – 2	18,56	> 3,84 (ДА)
		HCT – 5	-67,90	> 0 (НЕ)
		KORT – 2	9,195	> 3,84 (ДА)
		MMF – 2	7,184	> 3,84 (ДА)
		PDAY – 2	13,44	> 3,84 (ДА)
		WT – 2	223,3	> 3,84 (ДА)
		UP – 2	0,01200	> 3,84 (НЕ)
	HCT – 2 + *WT* – 2 (8028)	*AGE* – 2	3,1790	> 3,84 (НЕ)
		ALP – 2	0,7170	> 3,84 (НЕ)
		AST – 2	25,59	> 3,84 (ДА)
		HCT – 5	-68,18	> 0 (НЕ)
		KORT – 2	2,962	> 3,84 (НЕ)
		MMF – 2	2,103	> 3,84 (НЕ)
		PDAY – 2	10,92	> 3,84 (ДА)
		WT – 5	2,567	> 0 (ДА)
		UP – 2	3,974	> 3,84 (ДА)

Корак у анализи	**Модел за поређење (*OFV*)**	**Тестирани модел***	**Δ*OFV***	**Циљна вредност (значајност)**
„Корак унапред“ – тестирање у односу на претходно одабрани подмодел	*HCT* – 2 + *WT* – 5 (8025)	*AGE* – 2	3,224	> 3,84 (НЕ)
		ALP – 2	0,8680	> 3,84 (НЕ)
		AST – 2	25,39	> 3,84 (ДА)
		HCT – 5	-68,64	> 0 (НЕ)
		KORT – 2	3,158	> 3,84 (НЕ)
		MMF – 2	2,221	> 3,84 (НЕ)
		PDAY – 2	11,414	> 3,84 (ДА)
		UP – 2	3,755	> 3,84 (НЕ)
	HCT – 2 + *WT* – 5 + *AST* – 2 (8000)	*AGE* – 2	2,531	> 3,84 (НЕ)
		ALP – 2	0,2100	> 3,84 (НЕ)
		AST – 5	-12,44	> 0 (НЕ)
		HCT – 5	-66,63	> 0 (НЕ)
		KORT – 2	4,137	> 3,84 (ДА
		MMF – 2	1,760	> 3,84 (НЕ)
		PDAY – 2	13,71	> 3,84 (ДА
		UP – 2	3,206	> 3,84 (НЕ)
	HCT – 2 + *WT* – 5 + *AST* – 2 + *PDAY* – 2 (7986)	*AGE* – 2	3,253	> 3,84 (НЕ)
		ALP – 2	0,05900	> 3,84 (НЕ)
		AST – 5	-13,32	> 0 (НЕ)
		HCT – 5	-30,78	> 0 (НЕ)
		KORT – 2	2,244	> 3,84 (НЕ)
		MMF – 2	0,7790	> 3,84 (НЕ)
		PDAY – 5	7,157	> 0 (ДА)
		UP – 2	6,176	> 3,84 (ДА)
	HCT – 2 + *WT* – 5 + *AST* – 2 + *PDAY* – 5 (7979)	*AGE* – 2	2,543	> 3,84 (НЕ)
		ALP – 2	0,3140	> 3,84 (НЕ)
		AST – 5	-12,39	> 0 (НЕ)
		HCT – 5	-26,69	> 0 (НЕ)
		KORT – 2	0,3410	> 3,84 (НЕ)
		MMF – 2	0,9720	> 3,84 (НЕ)
		UP – 2	7,930	> 3,84 (ДА)

Корак у анализи	Модел за поређење (*OFV*)	Тестирани модел*	Δ*OFV*	Циљна вредност (значајност)
„Корак унапред“ – тестирање у односу на претходно одабрани подмодел	*HCT* – 2 + *WT* – 5 + *AST* – 2 + *PDAY* – 5 + *UP* – 2 (7971)	*AGE* – 2	2,907	> 3,84 (НЕ)
		ALP – 2	0,08100	> 3,84 (НЕ)
		AST – 5	-11,64	> 0 (НЕ)
		HCT – 5	-33,44	> 0 (НЕ)
		KORT – 2	0,1860	> 3,84 (НЕ)
		MMF – 2	0,5580	> 3,84 (НЕ)
		UP – 5	4,714	> 0 (ДА)
	HCT – 2 + *WT* – 5 + *AST* – 2 + *PDAY* – 5 + *UP* – 5 (7966)	*AGE* – 2	3,099	> 3,84 (НЕ)
		ALP – 2	0,04600	
		AST – 5	-11,55	
		HCT – 5	-35,75	
		KORT – 2	0,1640	
		MMF – 2	0,4570	
Корак „уназад“ – поређење са потпуним моделом	*HCT* – 2 + *WT* – 5 + *AST* – 2 + *PDAY* – 5 + *UP* – 5 (7966)	*AST* – 0	25,25	> 6,63 (ДА)
		HCT – 0	76,93	
		PDAY – 0	35,87	
		WT – 0	222,94	
		UP – 0	15,35	

* 2 означава линеарни модел, 5 – степеновани, а 0 искључивање коваријате из модела; *AGE* – старост; *ALP* – алкална фосфатаза; *AST* – аспартат-аминотрансфераза; *KORT* – кортикостероиди; *MMF* – микофенолат мофетил; *PDAY* – време протекло од трансплантације; *UP* – укупни протеини плазме; *HCT* – хематокрит; *WT* – укупна телесна маса

Испитивање утицаја коваријата рађено је аутоматизованим поступком у софтверу *PsN*® (опција *scm*) како је и описано у тачки 4.3.1. Детаљи тока идентификације значајних фактора варијабилности дати су у Табели 5.7. Након тражења значајних коваријата кроз „кораке унапред“ добијен је потпуни модел који је укључивао утицаје коваријата *PDAY*, *WT*, *HCT*, *AST* и *UP*. У првом кораку највећу значајност имала је коваријата *HCT*, тако да је она уврштена у модел и тако је добијен први подмодел. Утицај *HCT* описан је линеарним моделом. Утицај *WT* је боље описивао степеновани модел и наредни подмодел је садржао коваријате *HCT* и *WT*. Следећа коваријата која је уврштена у модел јесте *AST* и то у виду линеарног модела, а у последњим корацима додати су и *PDAY* и *UP* чији утицаји су описани степенованим моделима. Све коваријате из потпуног модела су показале значајност и у „кораку уназад“ тако да су њихови утицаји део и финалног модела.

Параметри финалног модела дати су у Табели 5.8 и једначина добијеног модела се може написати као што је дато у Једначини 5.1.

$$CL/F=\theta_{CL/F}\cdot\left(\frac{PDAY}{47}\right)^{\theta_{PDAY}}\cdot\left(\frac{WT}{68}\right)^{\theta_{WT}}\cdot\left(1+\theta_{HCT}\cdot\left(HCT-0.31\right)\right)\cdot\left(1+\theta_{AST}\cdot\left(AST-15\right)\right)\cdot\left(\frac{UP}{63}\right)^{\theta_{UP}}$$

Једначина 5.1

Број значајних цифара израчунатих вредности параметара је 3,9. Просечна вредност *CL/F* такролимуса у финалном моделу за типичног пацијента је 10,02 *L/h*. Процењена интериндивидуална варијабилност у финалном моделу је 15,22%, а резидуална варијабилност 4,07 *ng/mL*. Индивидуално израчунате вредности *CL/F* на основу финалног модела крећу се у распону 4,61 – 19,48 *L/h*. Према овом моделу, у овој популацији пацијената, *CL/F* се смањује са временом након трансплантације, повећањем вредности *HCT* и вредности *AST*. До повећања вредности *CL/F* долази са повећањем телесне масе пацијената, као и са повећањем укупних протеина у плазми. Вредности *CL/F* при минималним и максималним вредностима ових параметара, рачунато за сваки фактор утицаја засебно, у испитиваној популацији пацијената дати су у Табели 5.9.

Табела 5.8 Параметри финалног модела такролимуса за рани посттрансплантациони период

Параметар	**Процењена вредност**	***SE***	***95% CI***
OFV	7952	-	-
$\boldsymbol{\theta_{CL/F}}$ **(*L/h*)**	10,02	0,1650	9,677 – 10,32
$\boldsymbol{\theta_{PDAY}}$	-0,0283	0,008597	-0,04515 – -0,01145
$\boldsymbol{\theta_{WT}}$	0,8689	0,08512	0,7022 – 1,036
$\boldsymbol{\theta_{HCT}}$	-0,8307	0,1744	-1,172 – -0,4899
$\boldsymbol{\theta_{AST}}$	-0,0008612	0,0002503	-0,0003706 – -0,0001352
$\boldsymbol{\theta_{UP}}$	0,1607	0,09130	-0,01824 – 0,3396
$\boldsymbol{\theta_{Vd/F}}$ **(*L/kg*)**	0,68 FIX	-	-
$\boldsymbol{\theta_{kres}}$ **(h^{-1})**	1,3 FIX	-	-
$\boldsymbol{\omega^2_{CL/F}}$	0,02316	0,003159	-
$\boldsymbol{CV_{CL/F}}$ **(%)**	15,22	-	13,03 – 17,13
Wa **(*ng/mL*)**	4,070	0,2310	3,617 – 4,523
$\boldsymbol{\eta_{shrinkage}}$ **(%)**	1,617	-	-
$\boldsymbol{\varepsilon_{shrinkage}}$ **(%)**	3,082	-	-

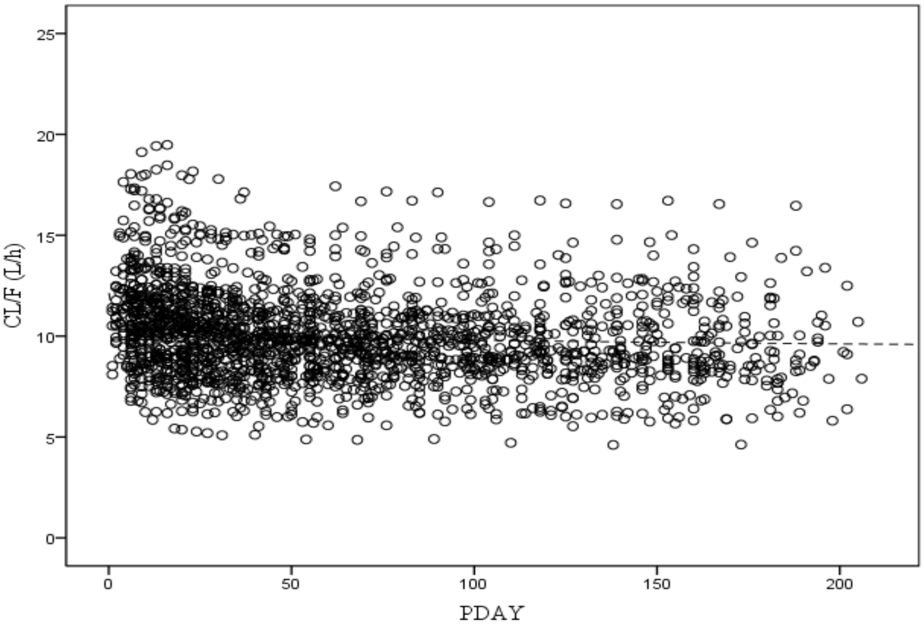
OFV - објективна вредност функције; *SE* – стандардна грешка; FIX – вредност параметра је фиксирана; $CV_{CL/F}$ - коефицијент варијације за интериндивидуалну варијабилност у вредностима оралног клиренса; $\varepsilon_{shrinkage}$ – скупљање у вредностима резидуалне варијабилности; $\eta_{shrinkage}$ - скупљање у вредностима интериндивидуалне варијабилности; θ_{AST} – утицај аспартат-аминотрансферазе; $\theta_{Vd/F}$ – орални волумен дистрибуције; θ_{kres} – константа брзине ресорпције; θ_{PDAY} – утицај броја дана након трансплантације; θ_{UP} – утицај укупних протеина; θ_{HCT} – утицај хематокрита; $\theta_{CL/F}$ – орални клиренс; θ_{WT} – утицај телесене масе; $\omega^2_{CL/F}$ – варијанса свих интериндивидуалних варијабилности у вредности оралног клиренса; *Wa* – адитивна грешка; *95% CI* – 95% интервал поузданости

Табела 5.9 Промене у вредностима оралног клиренса (*CL/F*) такролимуса у зависности од идентификованих фактора варијабилности за рани посттрансплантациони период

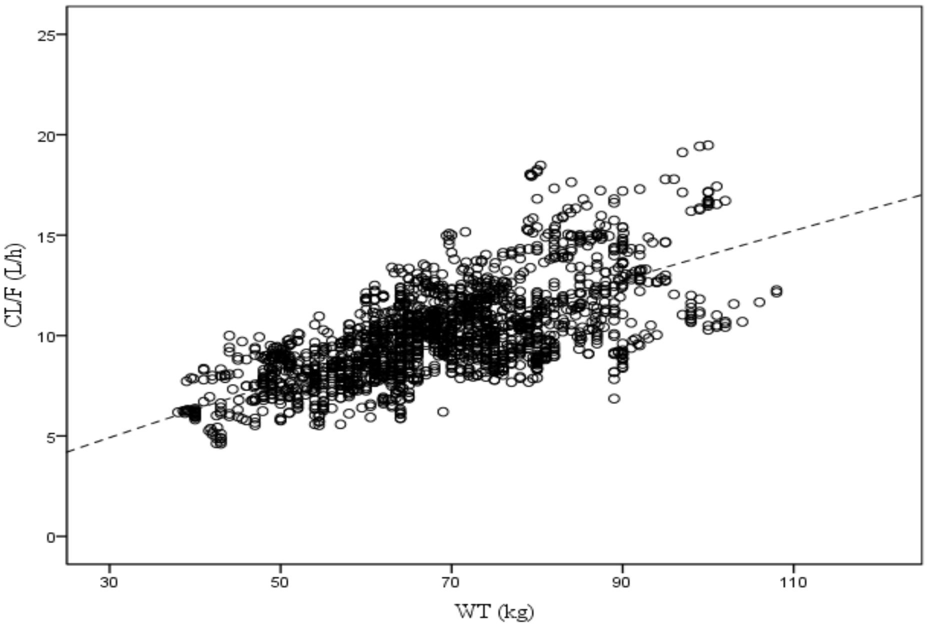
Фактор варијабилности	Просечни орални клиренс такролимуса (*L/h*)	
	Минимална вредност	Максимална вредност
PDAY	11.17	9.60
WT	6.04	14.98
HCT	12.35	6.36
AST	10.11	6.58
UP	9.23	11.35

AST – аспартат-аминотрансфераза; *PDAY* – време протекло од трансплантације; *UP* – укупни протеини плазме; *HCT* – хематокрит; *WT* – телесна маса

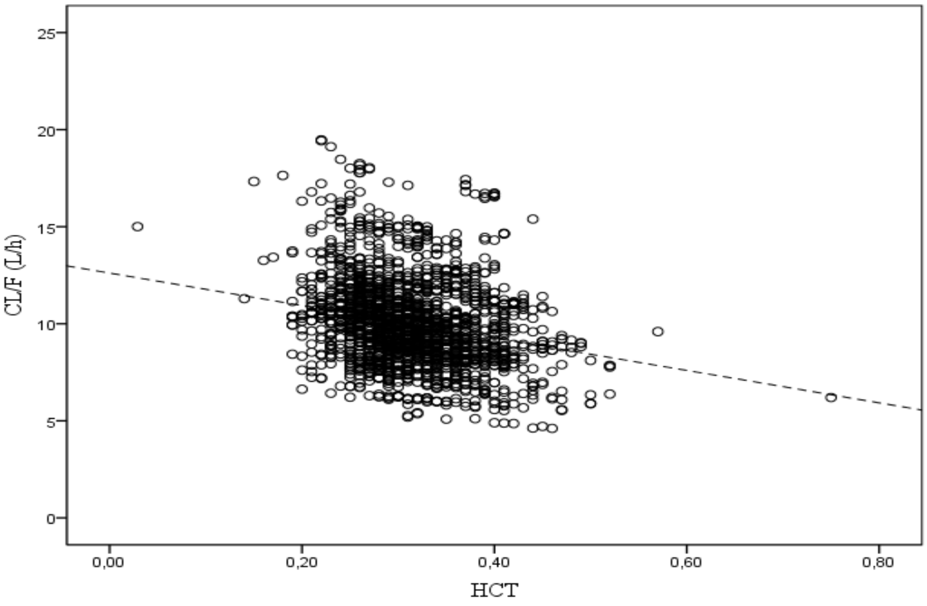
Тренд промене *CL/F* у функцији коваријата приказан је на Сликама 5.5, 5.6, 5.7, 5.8 и 5.9.



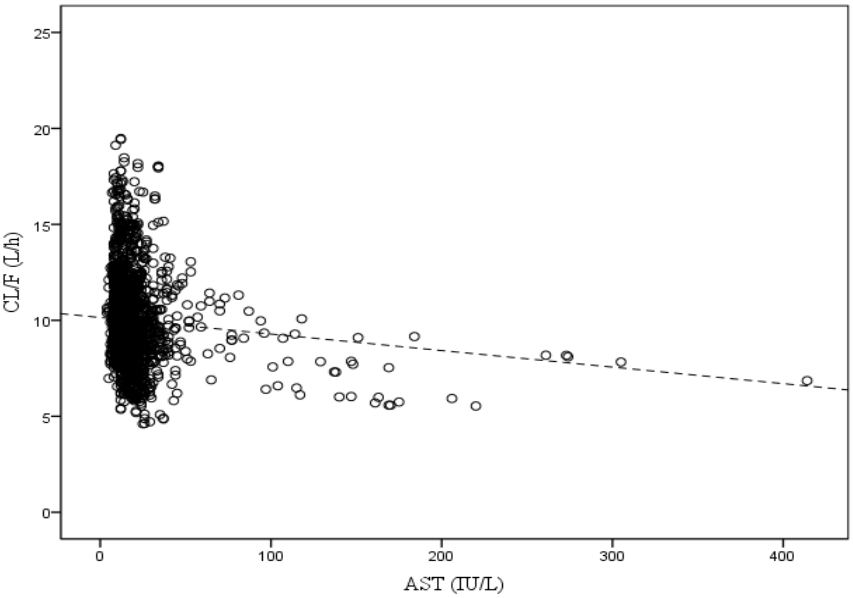
Слика 5.5 Зависност индивидуалних вредности оралног клиренса такролимуса (*CL/F*) и дана након трансплантације (*PDAY*) према финалном моделу за рани посттрансплантациони период. Испрекидана линија представља дату зависност дефинисану једначином модела.



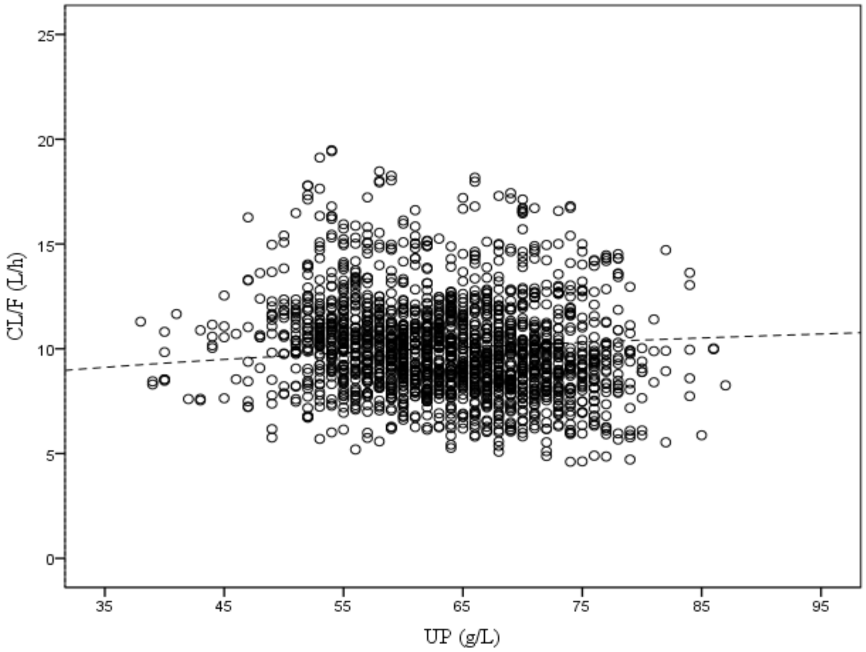
Слика 5.6 Зависност индивидуалних вредности оралног клиренса такролимуса (*CL/F*) и телесне масе (*WT*) према финалном моделу за рани посттрансплантациони период. Испрекидана линија представља дату зависност дефинисану једначином модела.



Слика 5.7 Зависност индивидуалних вредности оралног клиренса такролимуса (*CL/F*) од хематокрита (*HCT*) према финалном моделу за рани посттрансплантациони период. Испрекидана линија представља дату зависност дефинисану једначином модела.



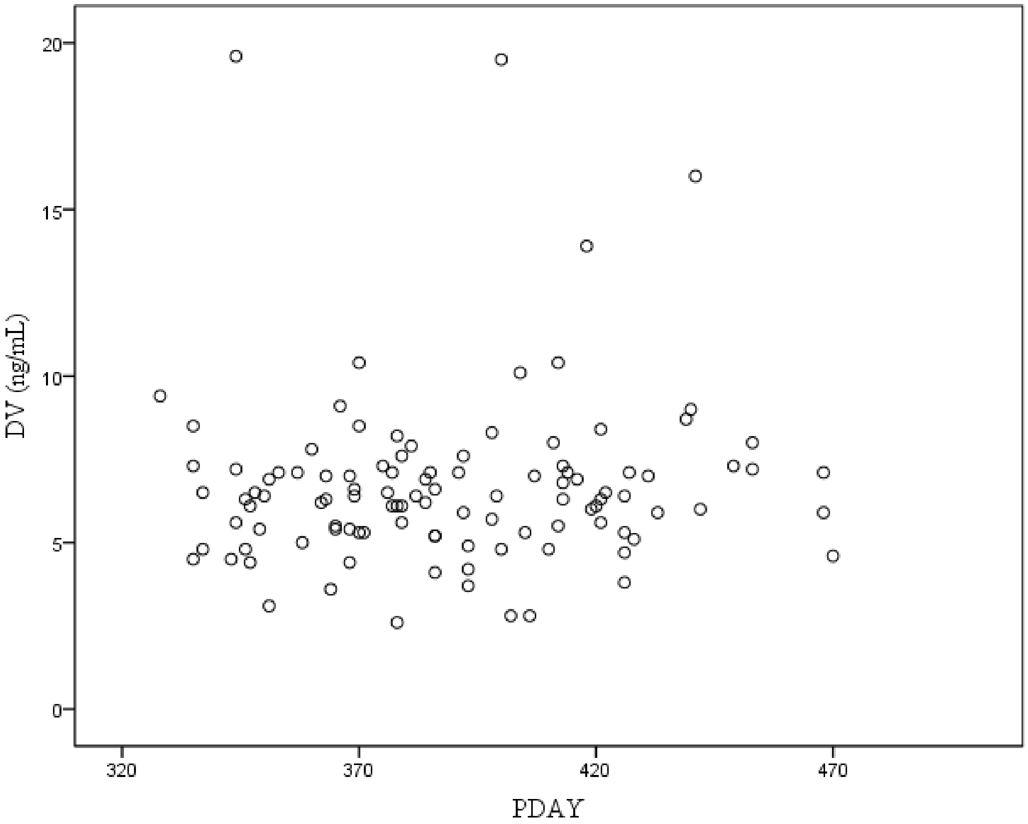
Слика 5.8 Зависност индивидуалних вредности оралног клиренса такролимуса (*CL/F*) и нивоа ензима јетре аспартат-аминотрансферазе (*AST*) према финалном моделу за рани посттрансплантациони период. Испрекидана линија представља дату зависност дефинисану једначином модела.



Слика 5.9 Зависност индивидуалних вредности оралног клиренса такролимуса (*CL/F*) и концентрације укупних протеина у плазми (*UP*) према финалном моделу. Испрекидана линија представља дату зависност дефинисану једначином модела.

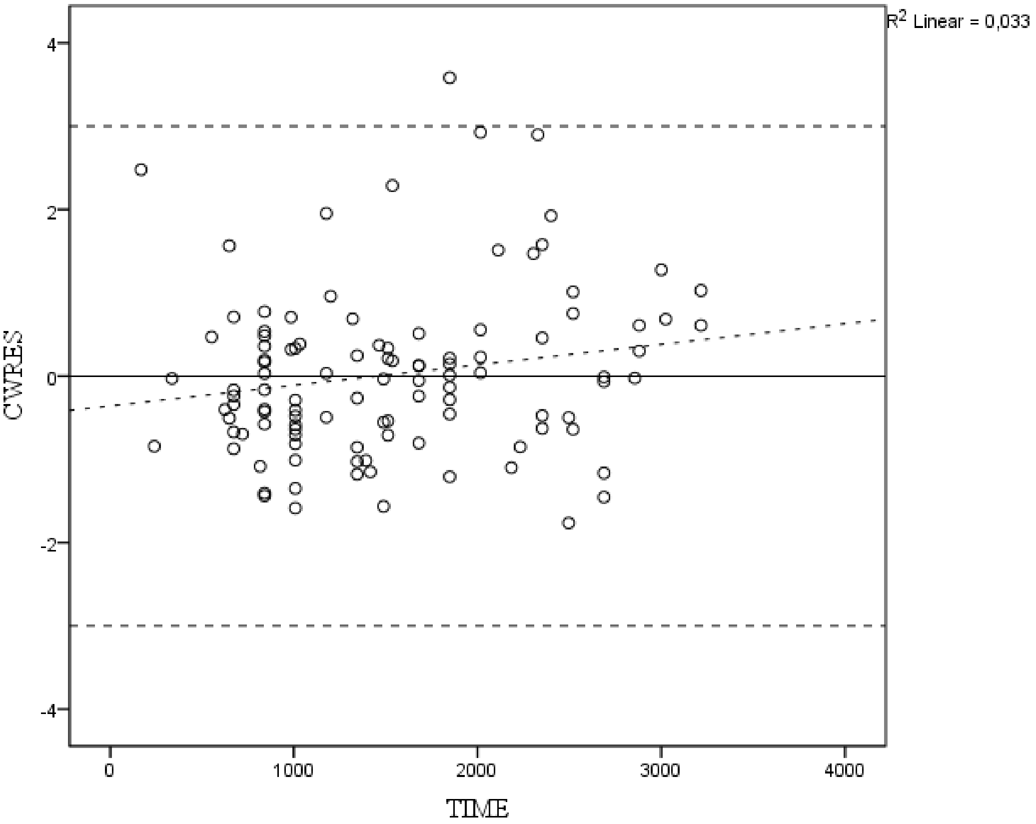
5.1.2.2. Испитивање фактора варијабилности такролимуса у стабилних пацијената, у касном посттрансплантационом периоду (приближно годину дана) и развој модела

У групи од 45 пацијената прикупљени су подаци за период од приближно годину дана након трансплантације и бројали су 108 измерених концентрација такролимуса. Све концентрације су одговарале C_{trough}. Зависност измерених концентрација од времена израженог као број дана након трансплантације приказана је на Слици 5.10.



Слика 5.10 Измерене концентрације такролимуса (*DV*) у зависности од времена израженог као дани након трансплантације (*PDAY*) за период од приближно годину дана након трансплантације

Приликом дефинисања основног модела зависност концентрација од времена описана је једнопросторним фармакокинетичким моделом са линеарним процесима ресорпције и елиминације приказаним шематски на Слици 4.1, а који се дефинише математичким моделом датим у Једначини 4.2. График зависности *CWRES* и времена, на основу кога се може видети адекватност структуралног модела дат је на Слици 5.11.



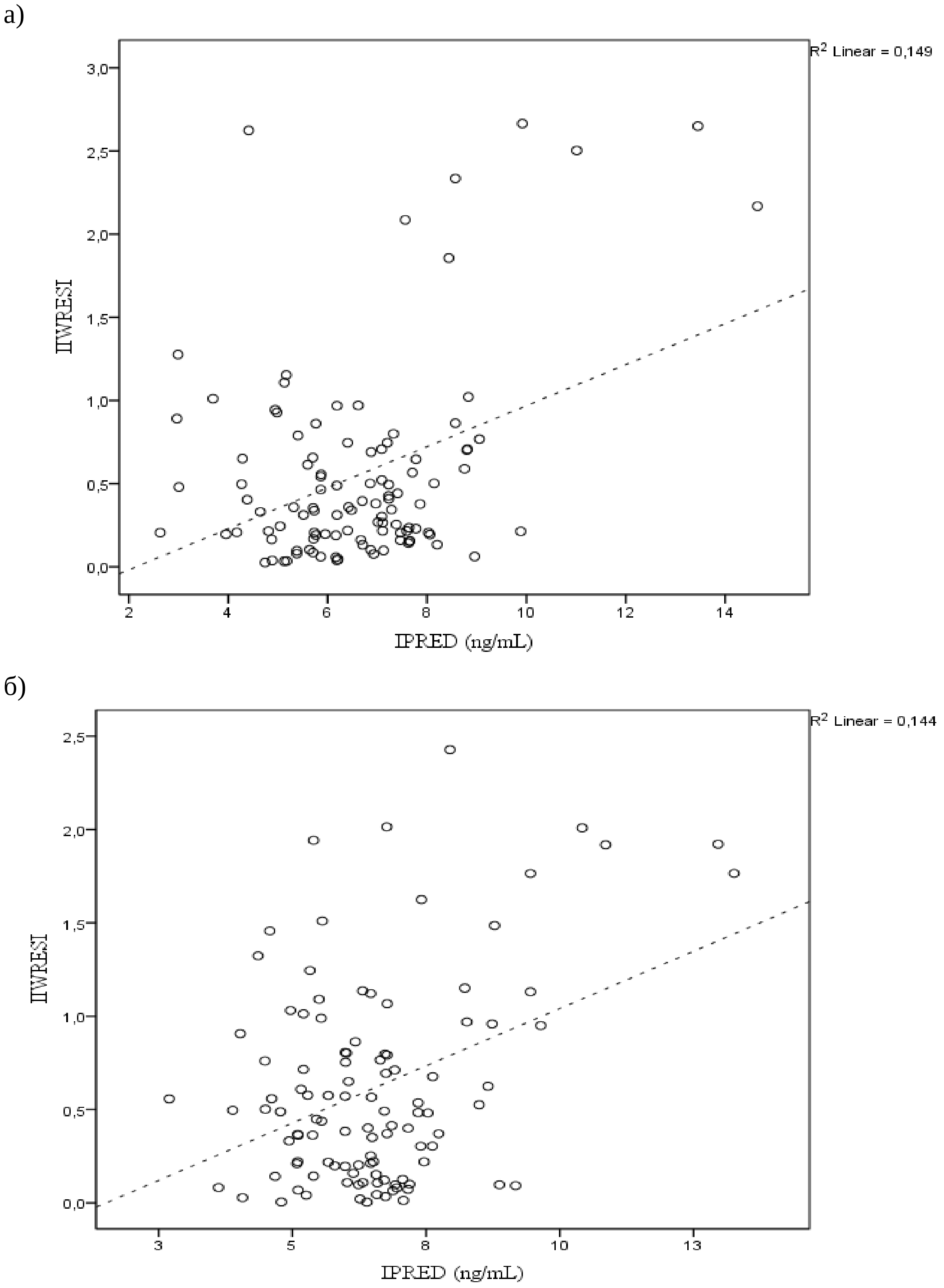
Слика 5.11 Зависност кондиционалних пондерисаних резидуала (*CWRES*) од времена (*TIME*) израженог у сатима од примене последње дозе такролимуса за основни модел за податке такролимуса за период од приближно годину дана након трансплантације

Интериндивидуална варијабилност у основном моделу описана је експоненцијалним моделом (Једначина 2.5). За дефинисање резидуалне грешке тестирано је више модела (адитивни, пропорционални и комбиновани), а резултати тестирања различитих модела дати су у Табели 5.10. Одговарајући графички прикази за процену модела резидуалне грешке приказани су на Слици 5.12.

Табела 5.10 Карактеристике тестираних модела резидуалне грешке за основни модел за податке такролимуса за период од приближно годину дана након трансплантације

Параметар		**Модел резидуалне грешке**		
		Адитивни	**Пропорционални**	**Комбиновани**
Минимизација		Успешна	Успешна	Неуспешна
Бр. места значајности		4,4	4,2	-
OFV		366,2	344,2	-
$\boldsymbol{\theta_{CL/F}}$ **(*L/h*)**	Процењена вредност	12,46	12,24	-
	SE	0,5820	0,5832	-
	95% *CI*	11,36 – 13,64	11,06 – 13,34	-
Интериндивидуална варијабилност, $\eta_{CL/F}$	$\omega^2_{CL/F}$ (*SE*)	0,08009 (0,02576)	0,1029 (0,02813)	-
	$CV_{CL/F}$ (%) (95% *CI*)	28,3 (17,20 – 36,14)	32,07 (21,85 – 39,75)	-
Скупљање у $\eta_{CL/F}$	$\eta_{shrinkage}$ (%)	8,104	2,916	-
Резидуална варијабилност, $\boldsymbol{\varepsilon}$	*Wa* (*ng/mL*)	2,284	0 FIX	-
	Wp	0 FIX	0,2668	-
Скупљање у $\boldsymbol{\varepsilon}$	$\varepsilon_{shrinkage}$ (%)	18,80	18,02	-

OFV – објективна вредност функције; *SE* – стандардна грешка; FIX – вредност параметра је фиксирана; $CV_{CL/F}$ – коефицијент варијације за интериндивидуалну варијабилност у вредностима оралног клиренса; ε – резидуална варијабилност; $\varepsilon_{shrinkage}$ – скупљање у ε; $\eta_{CL/F}$ – интериндивидуална варијабилност у вредности оралног клиренса; $\eta_{shrinkage}$ – скупљање у η; $\theta_{CL/F}$ – орални клиренс; $\omega^2_{CL/F}$ – варијанса свих интериндивидуалних варијабилности у вредности оралног клиренса; *Wa* – адитивна грешка; *Wp* – пропорционална грешка; 95% *CI* – 95% интервал поузданости



Слика 5.12 Зависност апсолутне вредности пондерисаних резидуала (I*IWRES*I) од индивидуалних предвиђених вредности концентрација (*IPRED*) за: а) адитивни модел и б) пропорционални модел резидуалне грешке у основном моделу за податке такролимуса за период од приближно годину дана након трансплантације. Испрекидана линија представља регресиону линију

Као основни модел одабран је модел у коме је резидуална грешка описана пропорционалним моделом. Број места значајности у дефинисаном моделу је 4,2. Одабраним основним моделом процењена је популациона вредност *CL/F* од 12,24 *L/h*, са интериндивидуалном варијабилношћу од 32,07% и резидуалном варијабилношћу од 0,2668 (Табела 5.11).

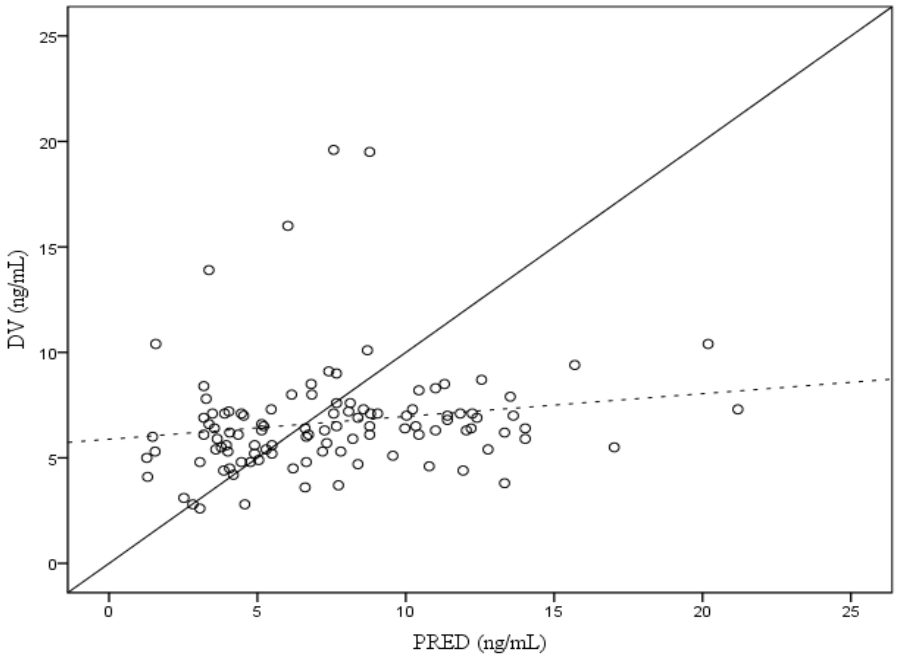
Табела 5.11 Параметри основног модела такролимуса за период од приближно годину дана након трансплантације

Параметар	**Процењена вредност**	***SE***	***95% CI***
OFV	344,2	-	-
$\boldsymbol{\theta_{CL/F}}$ **(*L/h*)**	12,24	0,5832	11,06 – 13,34
$\boldsymbol{\theta_{Vd/F}}$ **(*L/kg*)**	1,58 FIX	-	-
$\boldsymbol{\theta_{kres}}$ **(h^{-1})**	1,3 FIX	-	-
$\boldsymbol{\omega^2_{CL/F}}$	0,1029	0,02813	0,04776 – 0,1580
$\boldsymbol{CV_{CL/F}}$ **(%)**	32,07	-	21,85 – 39,75
Wp **(*ng/mL*)**	0,2668	0,03273	0,2026 – 0,3309
$\boldsymbol{\eta_{shrinkage}}$ **(%)**	2,916	-	-
$\boldsymbol{\varepsilon_{shrinkage}}$ **(%)**	18,02	-	-

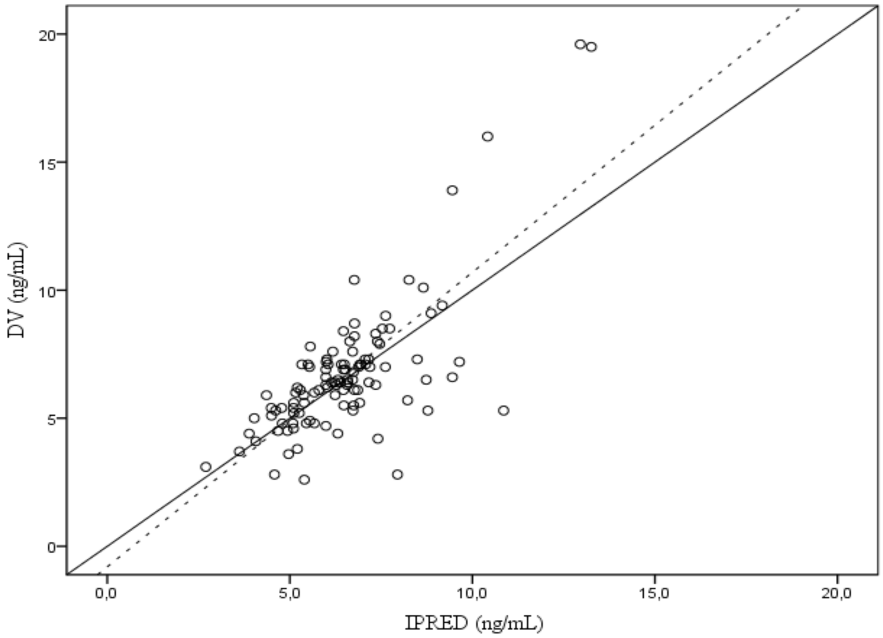
OFV - објективна вредност функције; *SE* – стандардна грешка; FIX – вредност параметра је фиксирана; $CV_{CL/F}$ - коефицијент варијације за интериндивидуалну варијабилност у вредностима оралног клиренса; $\varepsilon_{shrinkage}$ – скупљање у вредностима резидуалне варијабилности; $\eta_{shrinkage}$ – скупљање у вредностима интериндивидуалне варијабилности; $\theta_{Vd/F}$ – орални волумен дистрибуције; θ_{kres} – константа брзине ресорпције; $\theta_{CL/F}$ – орални клиренс; $\omega^2_{CL/F}$ – варијанса свих интериндивидуалних варијабилности у вредности оралног клиренса; *Wp* – пропорционална грешка; *95% CI* – 95% интервал поузданости

Основни графици на основу кога се могу видети предиктивне способности добијеног основног модела приказани су на Слици 5.13.

а)



б)



Слика 5.13 График зависности измерених (*DV*) и: а) популационих (*PRED*), б) индивидуално предвиђених концентрација (*IPRED*) за основни модел такролимуса за податке за период од приближно годину дана након трансплантације. Пуна линија представља линију идентичности, а испрекидана регресиону линију.

Након дефинисања основног модела испитивани су утицаји различитих коваријата на *CL/F* како је описано у делу 4.3.1.2. Детаљи процеса идентификације и избора значајних фактора варијабилности на елиминацију такролимуса у овом периоду након трансплантације дати су у Табели 5.12.

Табела 5.12 Процес идентификације значајних коваријата на *CL/F* такролимуса у периоду од око годину дана након трансплантације

Корак у анализи	**Модел за поређење (*OFV*)**	**Тестирани модел***	**Δ*OFV***	**Циљна вредност (значајност)**
„Кораци унапред“до потпуног модела	Основни модел (344,2)	DTAC – 5	24,3	> 3,84 (ДА)
		WT – 5	3,9	> 3,84 (ДА)
		HCT – 2	0,9	> 3,84 (НЕ)
		AST – 5	0,4	> 3,84 (НЕ)
		UP – 5	0,2	> 3,84 (НЕ)
		KORT – 1	3,4	> 3,84 (НЕ)
		CBLOK – 1	1,8	> 3,84 (НЕ)
		DIPIN – 1	0,3	> 3,84 (НЕ)
		RANI – 1	0,3	> 3,84 (НЕ)
		OMEP – 1	0,3	> 3,84 (НЕ)
		STAT – 1	0,1	> 3,84 (НЕ)
		GEND – 1	6,0	> 3,84 (ДА)
	DTAC – 5 (319,9)	WT – 5	14	> 3,84 (ДА)
		GEND – 1	11,6	> 3,84 (ДА)
	DTAC + WT (305,9)	GEND – 1	2,4	> 3,84 (НЕ)
„Корак уназад“	DTAC + WT (305,9)	WT – 0	13,9	> 6,63 (ДА)
		DTAC – 0	34,4	

*1 – категоричка коваријата; 2 – линеарни модел; 5 – степеновани модел; 0 – искључивање коваријате из модела; *AST* – аспартат-аминотрансфераза; *GEND* – пол; *DIPIN* – примена дихидропиридинских блокатора канала за калцијум; *DTAC* – дневна доза такролимуса; *KORT* – кортикостероиди; *OMEP* – примена омепразола; *RANI* – примена ранитидина; *STAT* – примена статина; *UP* – укупни протеини плазме; *HCT* – хематокрит; *CBLOK* – примена верапамила или дилтиазема; *WT* – укупна телесна маса

Након „корака унапред“ добијен је потпуни модел који је укључивао утицаје *WT* и *DTAC*. Обе коваријате су задржане у моделу и након „корака уназад“ и део су финалног модела. Број значајних места за развијени финални модел је 3,1, а параметри су дати у Табели 5.13. Добијени финални модел се може приказати Једначином 5.2.

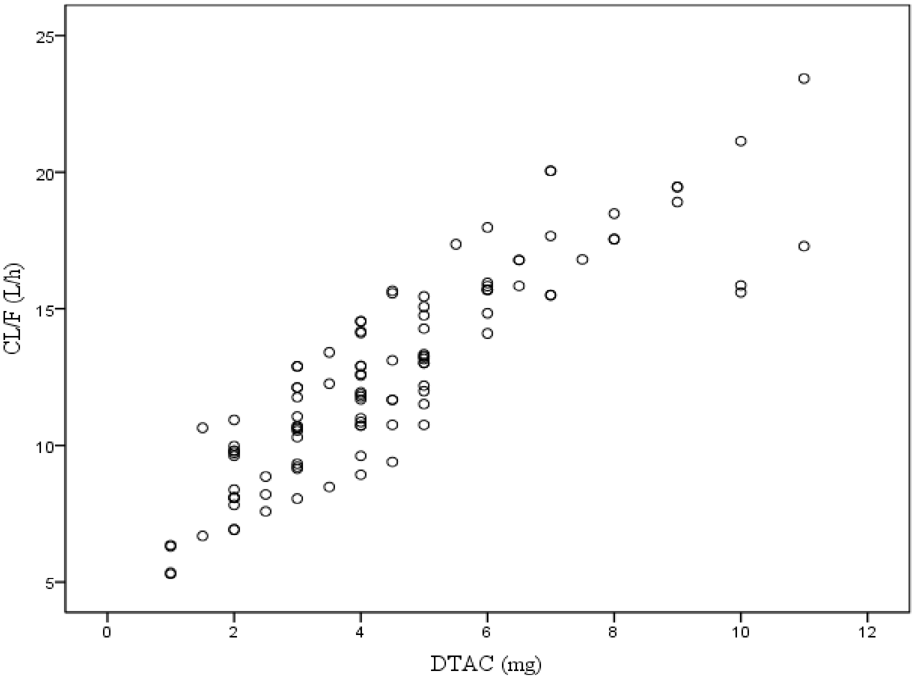
$$CL/F = \theta_{CL/F} \cdot \left(\frac{DTAC}{4}\right)^{\theta_{DTAC}} \cdot \left(\frac{WT}{72}\right)^{\theta_{WT}} \qquad \text{Једначина 5.2}$$

Табела 5.13 Параметри финалног модела такролимуса за период од око годину дана након трансплантације

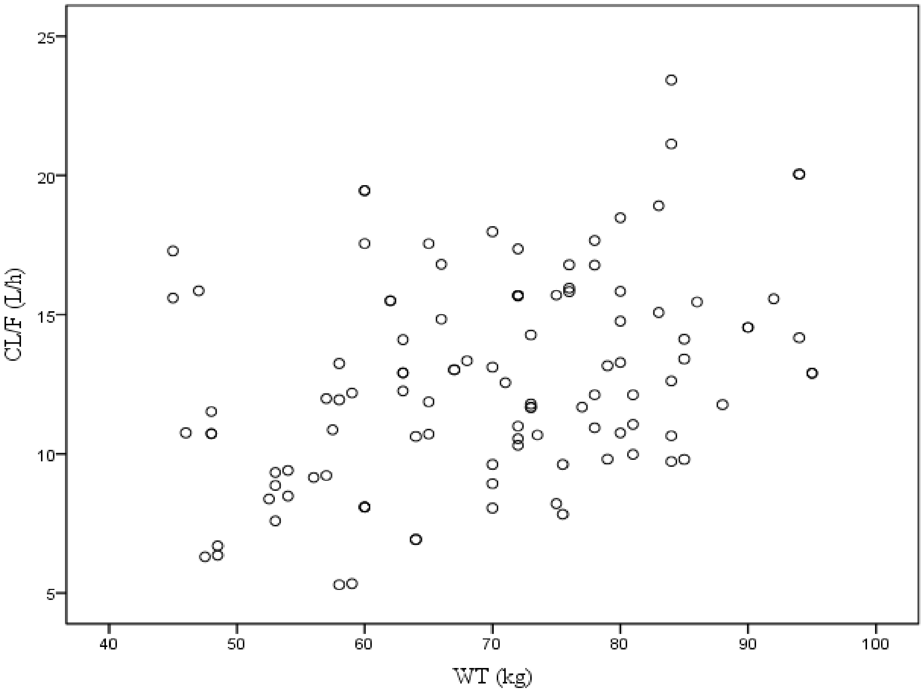
Параметар	**Процењена вредност**	***SE***	***95% CI***
OFV	305	-	-
$\boldsymbol{\theta_{CL/F}}$ **(*L/h*)**	4,27	0,723	2,85 – 5,69
$\boldsymbol{\theta_{DTAC}}$	1,51	0,0746	1,36 – 1,66
$\boldsymbol{\theta_{WT}}$	1,82	0,237	1,35 – 2,28
$\boldsymbol{\theta_{Vd/F}}$ **(*L/kg*)**	1,58 FIX	-	-
$\boldsymbol{\theta_{kres}}$ **(h^{-1})**	1,3 FIX	-	-
$\boldsymbol{\omega^2_{CL/F}}$	0,0202	0,00681	0,00685 – 0,0335
$\boldsymbol{CV_{CL/F}}$ **(%)**	14,2	-	8,28 – 18,3
Wp	- 0,302	0,0398	-0,380 – -0,224
$\boldsymbol{\eta_{shrinkage}}$ **(%)**	17,9	-	-
$\boldsymbol{\varepsilon_{shrinkage}}$ **(%)**	11,8	-	-

OFV - објективна вредност функције; *SE* – стандардна грешка; FIX – вредност параметра је фиксирана; $CV_{CL/F}$ - коефицијент варијације за интериндивидуалну варијабилност у вредностима оралног клиренса; $\varepsilon_{shrinkage}$ – скупљање у вредностима резидуалне варијабилности; $\eta_{shrinkage}$ - скупљање у вредностима интериндивидуалне варијабилности; $\theta_{Vd/F}$ – орални волумен дистрибуције; θ_{DTAC} – утицај дневне дозе такролимуса; θ_{kres} – константа брзине ресорпције; $\theta_{CL/F}$ – орални клиренс; θ_{WT} – утицај телесне масе; $\omega^2_{CL/F}$ – варијанса свих интериндивидуалних варијабилности у вредности оралног клиренса; *Wp* – пропорционална грешка; *95% CI* – 95% интервал поузданости

Просечна вредност *CL/F* такролимуса за дати посттрансплантациони период код типичног пацијента је процењена на 4,27 *L/h* са интериндивидуалном варијабилношћу од 14,2%. Као значајне коваријате су идентификовани *WT* и *DTAC* и њихов утицај је квантификован. Према добијеном моделу *CL/F* такролимуса је директно пропорционалан и *WT* и *DTAC*. Тренд промене *CL/F* у зависности од идентификованих коваријата дати су на Сликама 5.14 и 5.15.



Слика 5.14 Зависност индивидуалних вредности оралног клиренса такролимуса (*CL/F*) од дневне дозе такролимуса (*DTAC*) према финалном моделу за период од приближно годину дана након трансплантације



Слика 5.15 Зависност индивидуалних вредности оралног клиренса такролимуса (*CL/F*) од телесне масе (*WT*) према финалном моделу за период од приближно годину дана након трансплантације

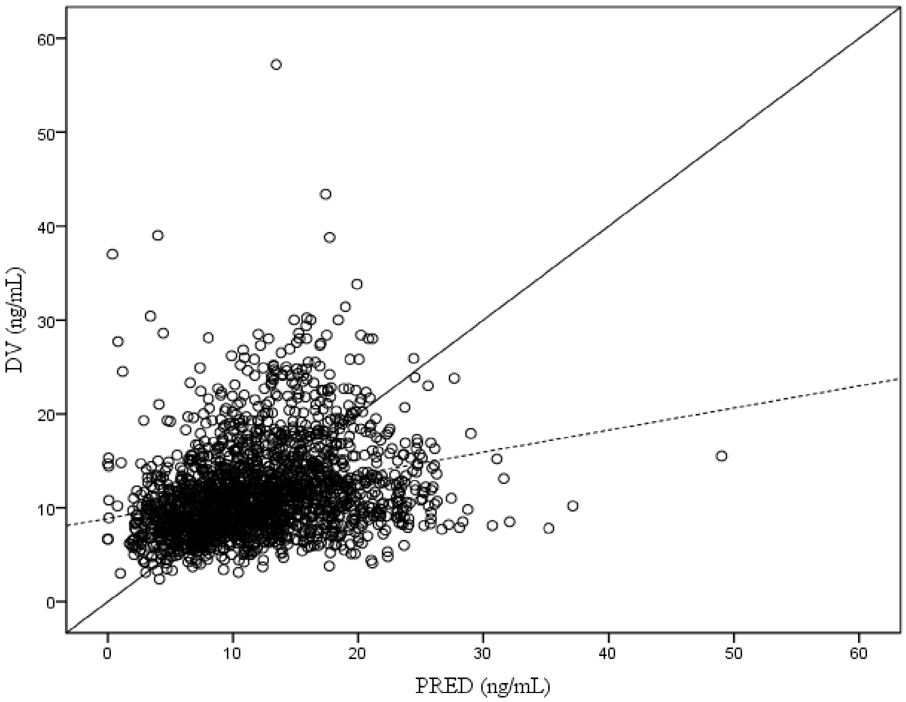
5.1.3. Валидација развијених модела за такролимус

Развијени финални модели за период до 6 месеци и након годину дана од трансплантације процењивани су графички и валидирани применом различитих техника интерне валидације као што је наведено у делу 4.3.1.

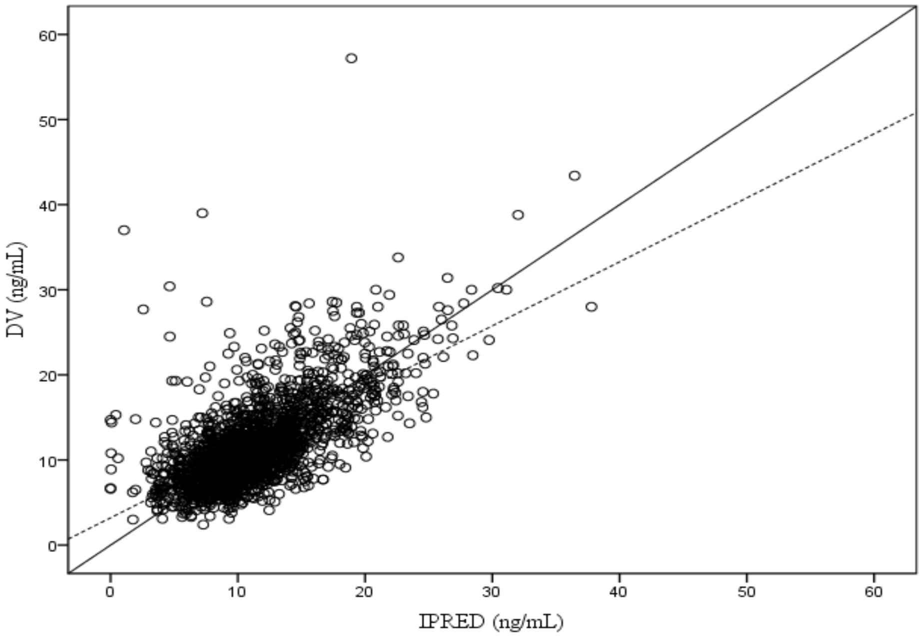
5.1.3.1. Процена и валидација финалног модела за такролимус развијеног за период до 6 месеци након трансплантације

Основни графици за процену адекватности финалног модела дати су на Сликама 5.16 и 5.17.

а)

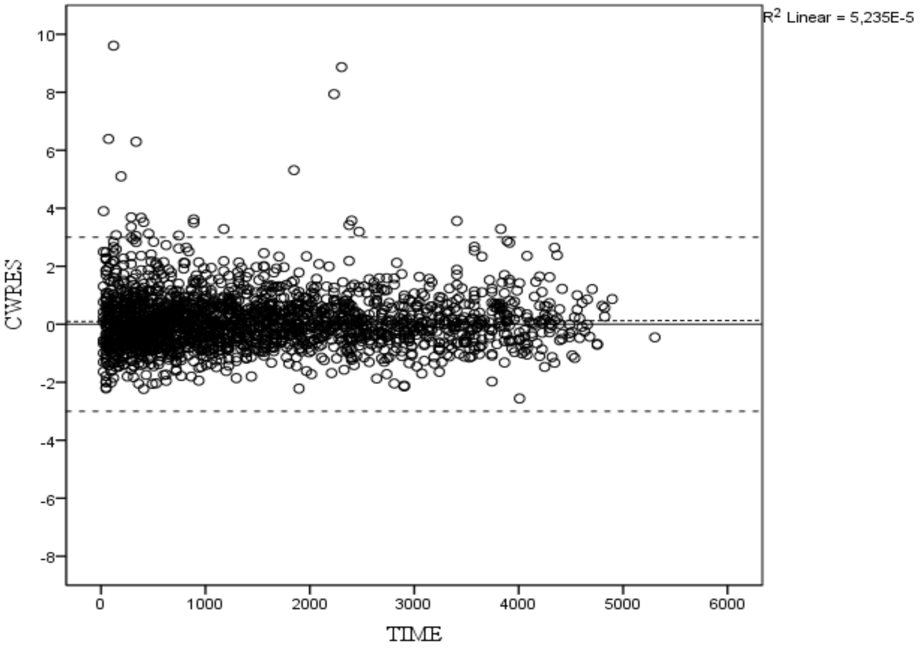


б)

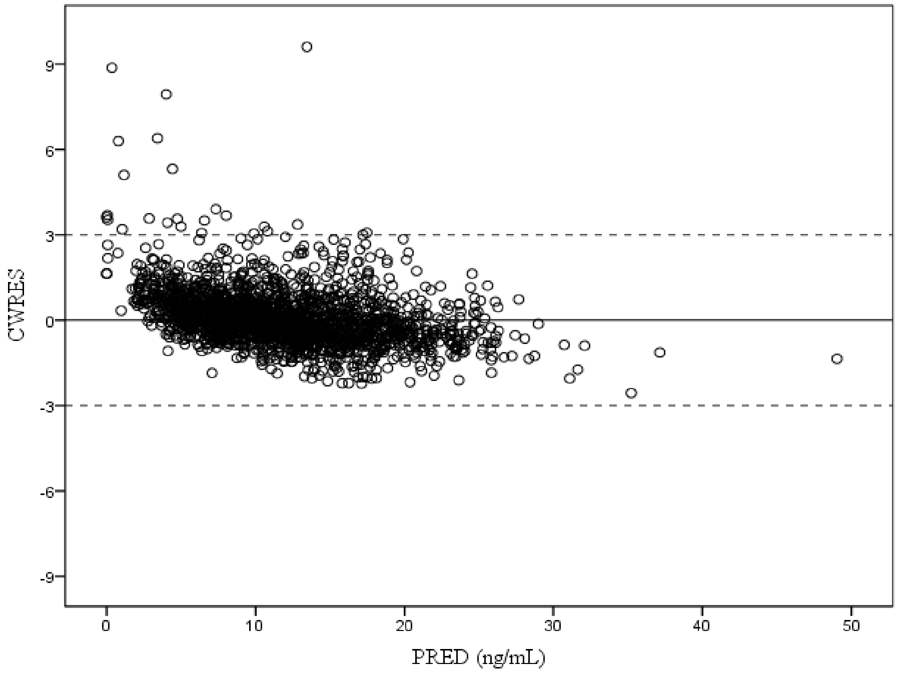


Слика 5.16 График зависности измерених (*DV*) и: а) популационих (*PRED*), б) индивидуално предвиђених концентрација (*IPRED*) за финални модел такролимуса за податке за период од 6 месеци након трансплантације. Пуна линија представља линију идентичности, а испрекидана регресиону линију.

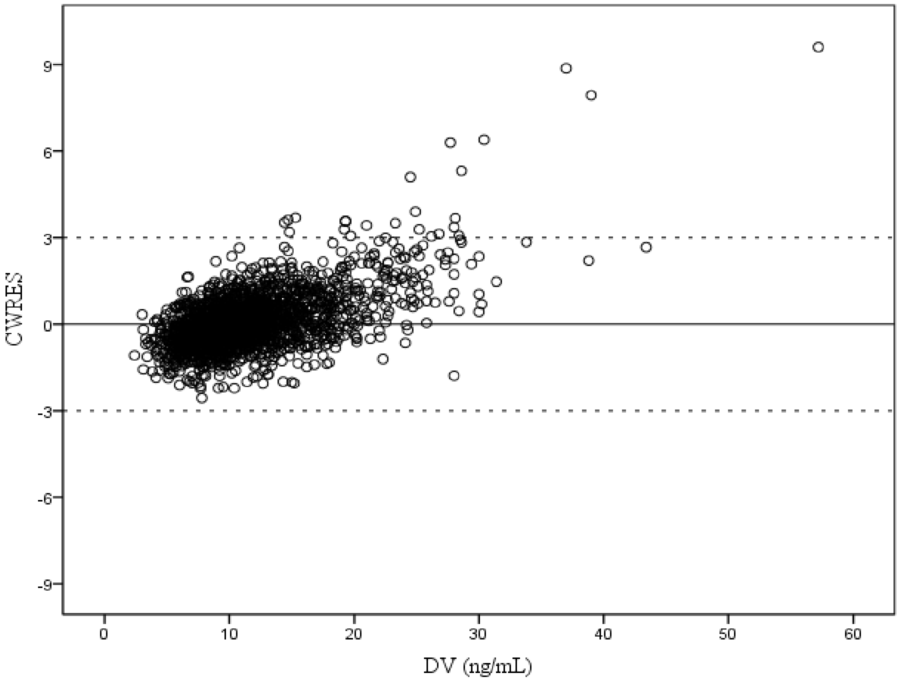
а)


R² Linear = 5,235E-5
CWRES
10
8
6
4
2
0
-2
-4
-6
-8
TIME
0
1000
2000
3000
4000
5000
6000

б)


CWRES
9
6
3
0
-3
-6
-9
PRED (ng/mL)
0
10
20
30
40
50

в)



Слика 5.17 Зависност кондиционалних пондерисаних резидуала (*CWRES*) од а) времена (*TIME*) израженог у сатима од примењене дозе, б) популационих предвиђених концентрација (*PRED*) и в) измерених концентрација такролимуса (*DV*)

Једна од техника интерне валидације која је коришћена за процену тачности и робусности овог модела јесте *Bootstrapping*. Од 1000 реплика колико је било задато софтверу, успешна минимизација је била у 998 покушаја. Медијана *OFV* вредности тих 998 успешних тестирања модела је 7887. У Табели 5.14 приказане су медијане и 95% *CI* за параметре модела добијене на основу вредности добијених из тестирања модела на 998 реплика.

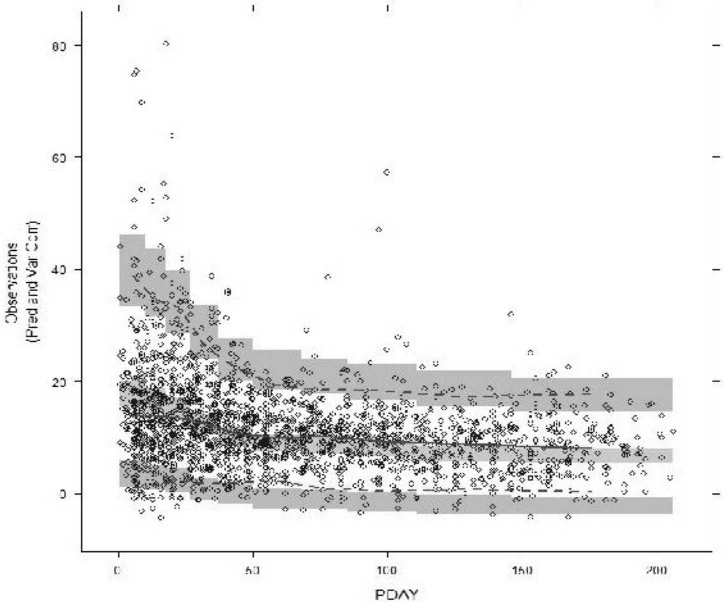
Табела 5.14 Параметри финалног модела такролимуса за рани посттрансплантациони добијени применом *Bootstrapping* технике за валидацију

Параметар	**Медијана**	**95% *CI***
$\theta_{CL/F}$ **(*L/h*)**	10,016	9,688 – 10,348
θ_{PDAY}	-0,02954	-0,04776 – -0,01366
θ_{WT}	0,8714	0,6911 – 1,0510
θ_{HCT}	-0,8117	-1,153 – -0,4775
θ_{AST}	-0,0008682	-0,001694 – -0,0003686
θ_{UP}	0,1563	0,009210 – 0,3565
$CV_{CL/F}$ **(%)**	14,83	13,39 – 16,87
***Wa* (*ng/mL*)**	4,032	3,614 – 4,519

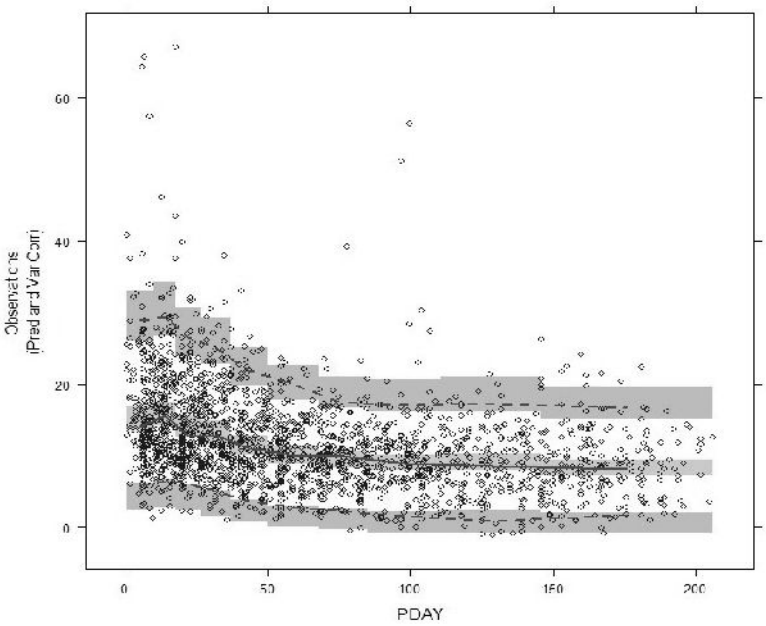
$CV_{CL/F}$ - коефицијент варијације за интериндивидуалну варијабилност у вредностима оралног клиренса; θ_{AST} – утицај аспартат-аминотрансферазе; θ_{PDAY} – утицај броја дана након трансплантације; θ_{UP} – утицај укупних протеина; θ_{HCT} – утицај хематокрита; $\theta_{CL/F}$ – орални клиренс; θ_{WT} – утицај телесне масе; *Wa* – адитивна грешка; 95% *CI* – 95% интервал поузданости

Друга техника интерне валидације која је коришћена за процену предиктивних карактеристика добијених модела (основног и финалног) јесте *VPC* и то *pvcVPC*. Добијени графици приказани су на Слици 5.18.

а)



б)

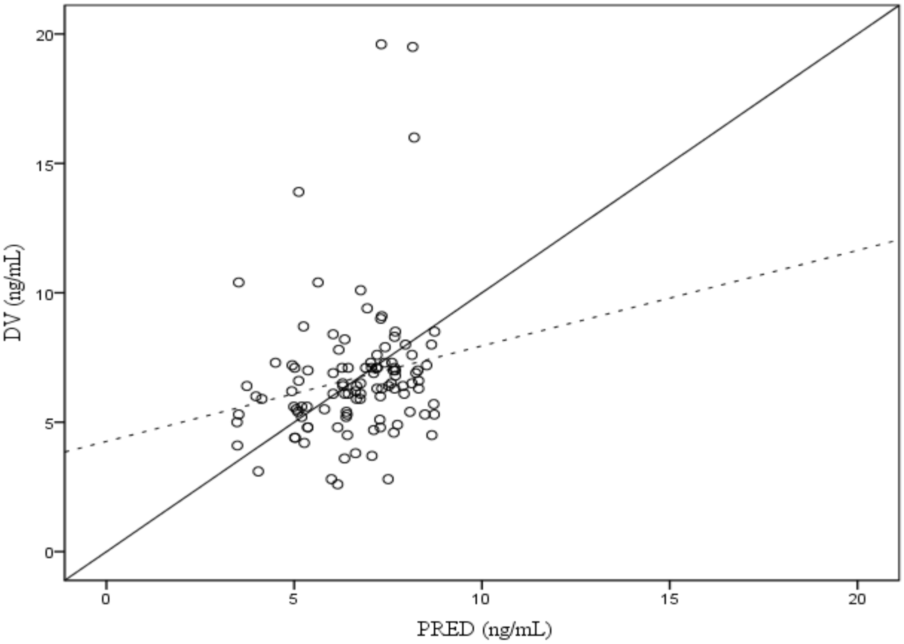


Слика 5.18 Предикционо и за варијабилност кориговани визуелна процена предиктивности (*prediction- and variability-corrected Visual Predictive Check – pvcVPC*), кориговане концентрације *(ng/mL)* у зависности од дана након трансплантације (*PDAY*) за: а) основни и б) финални модел такролимуса за период од 6 месеци након трансплантације. Пуна и испрекидане линије представљају медијану, 5. и 95. перцентил измерених концентрација са засенченим 95% интервалима поузданости за одговарајуће интервале предикције базиране на симулацијама.

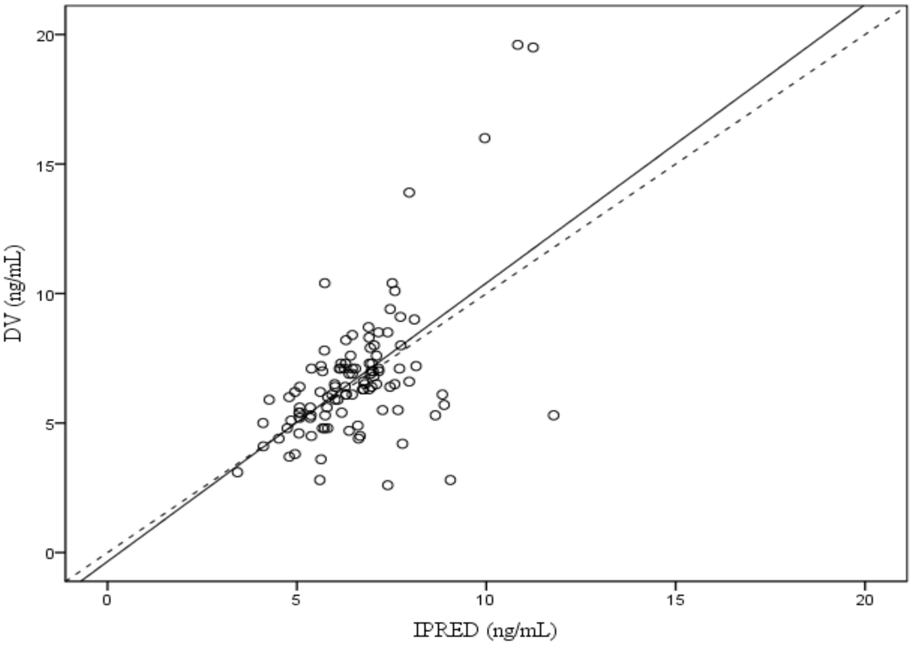
5.1.3.2. Процена и валидација финалног модела за такролимус за период од приближно годину дана након трансплантације

Основни графици за процену адекватности финалног такролимуса за период од приближно годину дана након трансплантације модела и његових предиктивних карактеристика приказани су на Сликама 5.19 и 5.20.

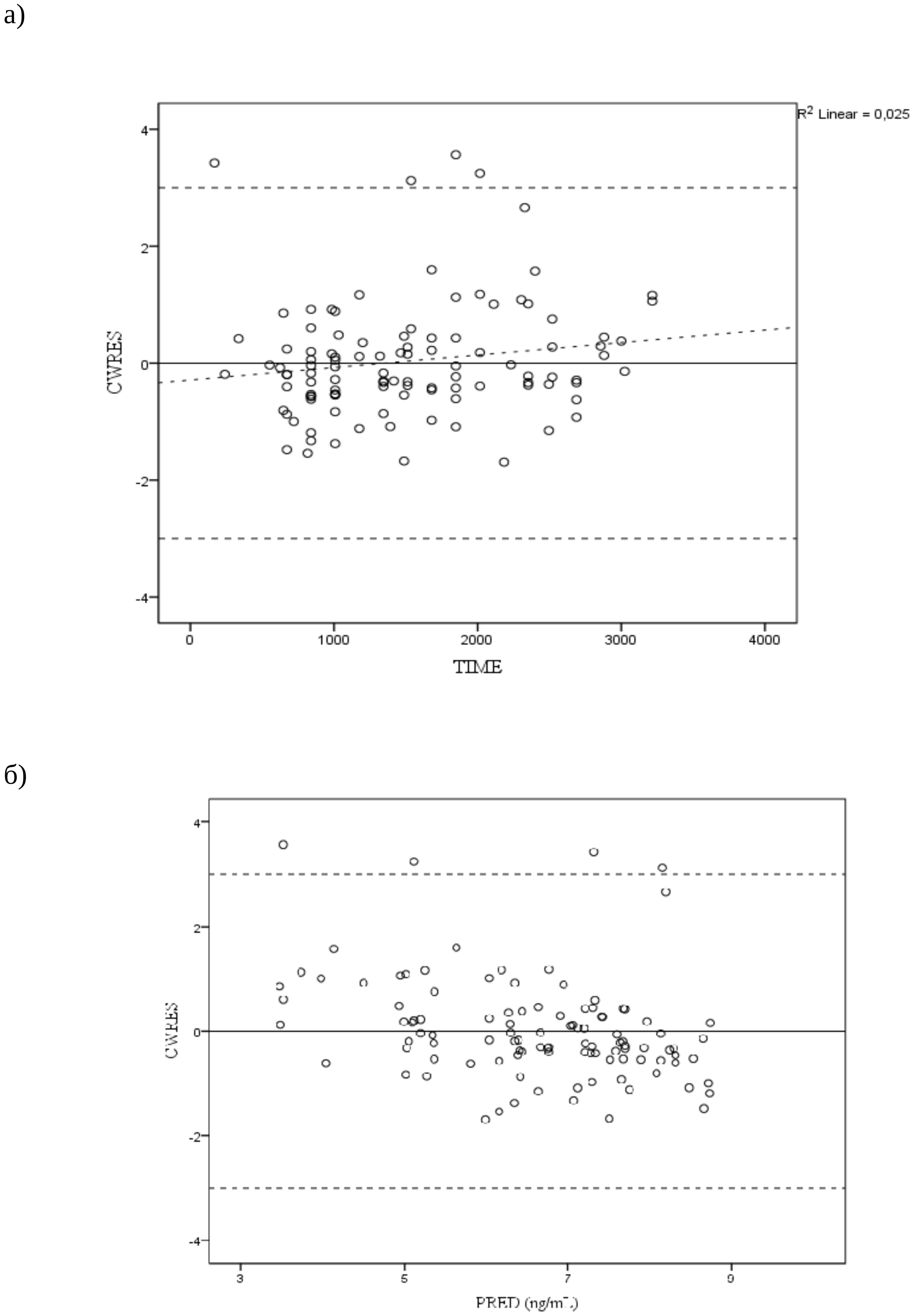
а)



б)



Слика 5.19 График зависности измерених (*DV*) и: а) популационих (*PRED*), б) индивидуално предвиђених концентрација (*IPRED*) за финални модел такролимуса за податке за период од приближно годину дана након трансплантације. Пуна линија представља линију идентичности, а испрекидана регресиону линију.



Слика 5.20 Зависност кондиционалних пондерисаних резидуала (*CWRES*) од а) времена (*TIME*) изражено у сатима након примењене дозе и б) популационих предвиђених концентрација (*PRED*) за финални модел такролимуса за период од приближно годину дана након трансплантације

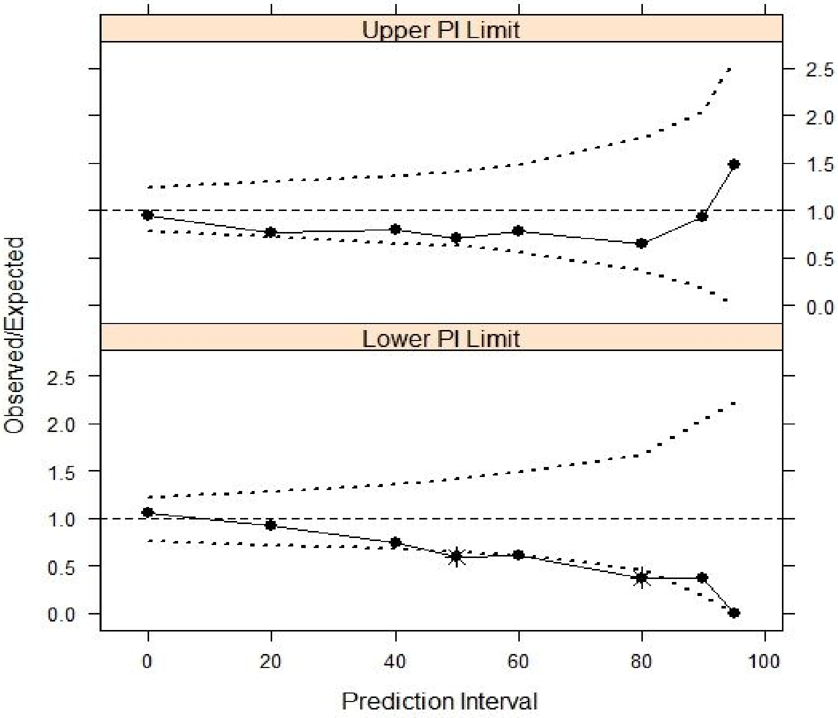
Робусност развијеног финалног модела процењена је техником *Bootstrapping*. Минимизација је била успешна за 999 од 1000 репликата. Медијана *OFV* вредности за 999 успешних тестирања модела је 299. Медијане и 95% *CI* параметара модела добијени на основу вредности добијених из тестирања модела на 999 репликата дати су у Табели 5.15.

Табела 5.15 Параметри финалног модела такролимуса за период од приближно годину дана након трансплантације добијени применом *Bootstrapping* технике за валидацију

Параметар	**Медијана**	**95% CI**
$\theta_{CL/F}$ (*L/h*)	4,27	3,03 – 6,08
θ_{DTAC}	1,52	1,38 – 1,73
θ_{WT}	1,82	1,33 – 2,38
$CV_{CL/F}$ (%)	13,34	7,71 – 18,0
***Wp* (*ng/mL*)**	-0,298	-0,382 – -0,224

$CV_{CL/F}$ – коефицијент варијације за интериндивидуалну варијабилност у вредностима оралног клиренса; θ_{DTAC} – утицај дневне дозе такролимуса; $\theta_{CL/F}$ – орални клиренс; θ_{WT} – утицај телсене масе; *Wp* – пропорционална грешка; 95% *CI* – 95% интервал поузданости

Предиктивне карактеристике овог финалног модела тестиране су и кроз технику интерне валидације *NPC* и то на 1000 симулација података. Графички приказ резултата *NPC* методе дат је на Слици 5.21.



Слика 5.21 Нумеричка процена предиктивности (*Numerical Predictive Check – NPC*) за финални модел такролимуса за период од приближно годину дана након трансплантације. Кругови представљају горње и доње границе интервала предвиђања добијене на основу оригиналних података. Испрекидане линије представљају 95% интервале поузданости за границе интервала предвиђања добијене на основу симулираних података

5.2. Резултати популационе фармакокинетичке анализе сиролимуса

Део резултата приказаних у овом поглављу објављени су у часописима *Journal of Medical Biochemistry* (117) и *Current Medicinal Chemistry* (33).

5.2.1. Карактеристике испитиване популације пацијената

У истраживање је укључено 38 пацијената који су у периоду након трансплантације конвертовани на терапију сиролимусом. Од њих 38, групу за развој модела чинило је 25 пацијената за које су постојали подаци о праћењу за период од приближно годину дана од тренутка отпочињања терапије сиролимусом. Карактеристике ове групе пацијената приказане су у Табели 5.16.

Табела 5.16 Демографске карактеристике пацијената на терапији сиролимусом који су чинили групу за развој модела

Карактеристика	**Број (%)/средња вредност ± стандардна девијација**	**Распон**
Пол	18 мушкарца (72) + 7 жене (28)	
Дијализа пре трансплантације	21 ДА (84) + 4 НЕ (16)	
Порекло органа	23 живи донор (92) + 2 кадавер (8)	
Терапија пре сиролимуса	11 (44) такролимус + 14 (56) циклоспорин	
Старост (године)	43 ± 13	16 – 64
Телесна маса (*kg*)	77,07 ± 18,76	44 – 128
SEKR (*μmol/L*)	194,86 ± 60,85	75 – 437
Хематокрит	0,33 ± 0,05	0,18 – 0,83
Укупни протеини (*g/L*)	69,25 ± 6,31	44 – 83
Укупни холестерол (*mmol/L*)	6,15 ± 1,22	2,62 – 9,45
Триглицериди (*mmol/L*)	2,55 ±1,09	0,73 – 6,64
ALP (*IU/L*)	74,94 ± 32,37	30 – 226
AST (*IU/L*)	28,34 ± 28,78	9 – 274
ALT (*IU/L*)	31,17 ± 29,54	7 – 226

ALP – аланин-фосфатаза; *ALT* – аланин-аминотрансфераза; *AST* – аспартат-аминотрансфераза; *SEKR* – серумски креатинин

Сиролимус је код свих пацијената био део тројне имуносупресивне терапије која је укључивала и микофенолну киселину и преднизон. Увођење сиролимуса у терапију и режим дозирања описани су у делу 4.1.2. Вредности мерених концентрација сиролимуса, као и подаци о његовом дозирању и дозирању осталих имуносупресива дати су у Табели 5.17.

Табела 5.17 Имуносупресивна терапија пацијената на терапији сиролимусом који су чинили групу за развој модела

ЛЕК	**Средња вредност ± стандардна девијација**	**Распон**
Сиролимус		
Доза (*mg/дан*)	3,6 ± 2,36	0,5 – 15
C_{trough} (*ng/mL*)	9,85 ± 4,81	0,5 – 38,4
Микофенолна киселина (*mg/дан*)	1104 ± 439,84	0 – 2000
Кортикостероид (*mg/дан*)	10,74 ± 6,5	0 – 50

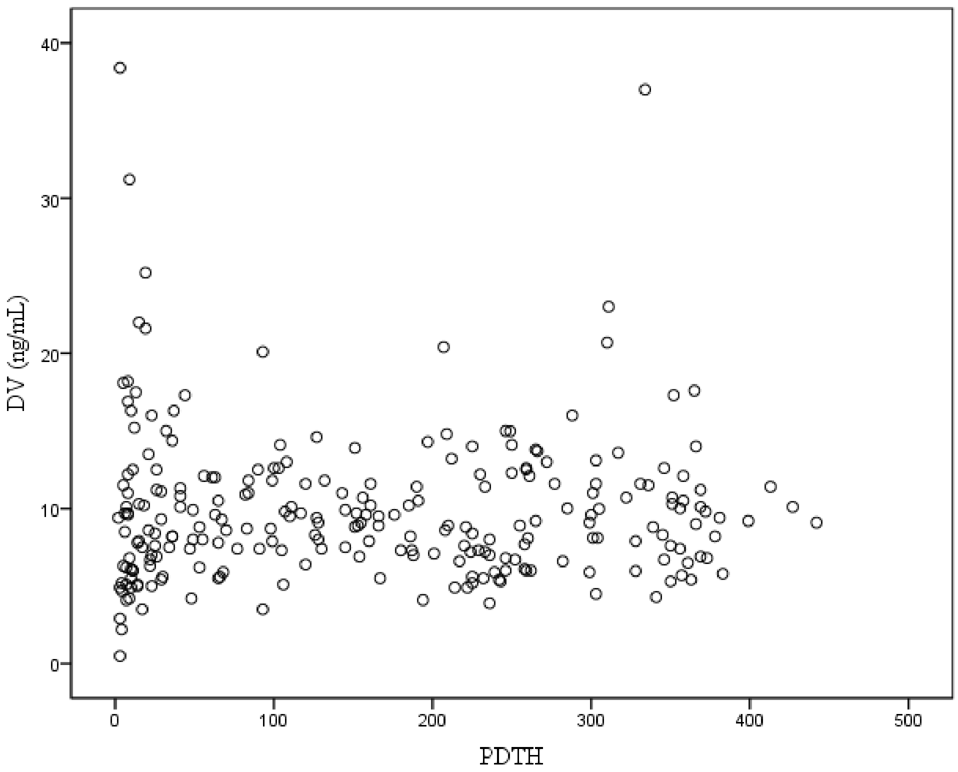
Групу пацијената чији су подаци коришћени за екстерну валидацију развијеног модела чинило је њих 13 који су недавно били конвертовани на сиролимус и за које је постојао мали број података о мереним концентрацијама (1 – 2 мерења по пацијенту). Карактеристике ове групе пацијената дате су табеларно (Табела 5.18).

Табела 5.18 Демографске и карактеристике имуносупресивне терапије пацијената на терапији сиролимусом који су чинили групу за валидацију

Карактеристика		**Број (%)/средња вредност ± стандардна девијација**	**Распон**
Пол		9 мушкараца (69) + 4 жена (31)	
Дијализа пре трансплантације		11 ДА (85) + 2 НЕ (15)	
Порекло органа		11 живи донор (85) + 2 кадавер (15)	
Терапија пре сиролимуса		8 такролимус (62) + 5 циклоспорин (38)	
Старост (године)		41 ± 10	18 – 59
Телесна маса (*kg*)		74,62 ± 16,71	54 – 110
SEKR (*µmol/L*)		195,09 ± 38,61	129 – 264
Хематокрит		0.34 ± 0.05	0,26 – 0,43
Укупни протеини (*g/L*)		69,71 ± 7,45	45 – 79
Укупни холестерол (*mmol/L*)		6,76 ± 1,1	5,13 – 8,98
Триглицериди (*mmol/L*)		2,53 ± 1,39	1,35 – 7,67
ALP (*IU/L*)		79,09 ± 34,08	32 – 178
AST (*IU/L*)		22,09 ± 13,42	10 – 74
ALT (*IU/L*)		26,24 ± 16,19	6 – 81
Сиролимус	Доза (*mg/дан*)	4,26 ± 3,62	1 – 14
	C_{trough} (*ng/mL*)	8,69 ± 2,64	4.9 – 16
Микофенолна киселина (*mg/дан*)		1250 ± 454,15	0 – 2000
Кортикостероид (*mg/day*)		8,45 ± 3,49	0 – 15
ALP – аланин-фосфатаза; *ALT* – аланин-аминотрансфераза; *AST* – аспартат-аминотрансфераза; *SEKR* – серумски креатинин			

5.2.2. Испитивање фактора фармакокинетичке варијабилности сиролимуса и развој модела

Подаци прикупљени од 25 пацијената укључених у групу за развој модела бројали су 250 измерених концентрација сиролимуса. Сви подаци су били део рутинског мониторинга пацијената, а све концентрације су, као и у случају такролимуса, одговарале C_{trough}. Зависност измерених концентрација сиролимуса од времена израженог као број дана од увођења сиролимуса у терапију приказана је на Слици 5.22.



Слика 5.22 Измерене концентрације сиролимуса (*DV*) у зависности од времена израженог као дани након отпочињања терапије (*PDTH*)

У првој фази вршен је избор структуралног модела. Као што је описано у делу 4.3.2 као структурални модели су тестирани *1-COMP*, *1-COMPprior* и 2-*COMPprior* модели. У Табели 5.19 су дати подаци о тестираним моделима, тј. који параметри су процењивани и за које су коришћени подаци познати из литературе.

Табела 5.19 Карактеристике тестираних структуралних модела сиролимуса – параметри који су испитивани и вредности параметара преузете из литературе

Параметар	**Структурални модел**		
	1-COMP	***1-COMPprior***	**2-*COMPprior***
k_{res}	2,2 h^{-1} FIX	+, *prior* 2.195 h^{-1}	+, *prior* 2.195 h^{-1}
Vd/F	13,5 *L/kg* FIX	+, *prior* 3670 *L*	/
Q/F	/	/	+, *prior* 20.4 *L/ h*
Vc/F	/	/	+, *prior* 117 *L*
Vp/F	/	/	+, *prior* 583 *L*
CL/F	+	+	+
$\omega^2{}_{ka}{}^{*}$	/	+, *prior* 0.1449	+, *prior* 0.1449
$\omega^2{}_{Vd/F}{}^{*}$	/	+, *prior* 0.3215	/
$\omega^2{}_{Q/F}{}^{*}$	/	/	+, *prior* 0.1035
$\omega^2{}_{Vc/F}{}^{*}$	/	/	+, *prior* 0.305
$\omega^2{}_{Vp/F}{}^{*}$	/	/	+, *prior* 0.0654
$\omega^2{}_{CL/F}{}^{*}$	+	+	+

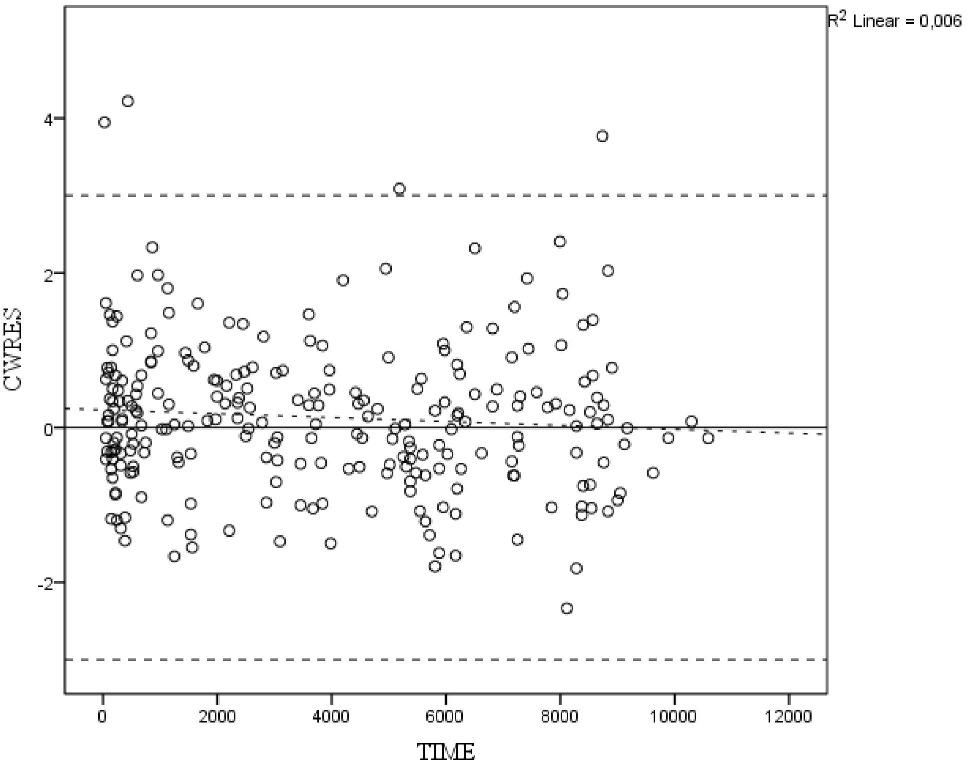
* - варијансе интериндивидуалних варијабилности; / - параметар није могуће проценити датим моделом; + - параметар је процењиван; *Vd/F* – орални волумен дистрибуције; *Vp/F*- орални волумен периферног простора; *Vc/F*- орални волумен централног простора; k_{res} - константа брзине ресорпције; *prior* – коришћене су претходно познате вредности (медијане); FIX – вредност параметра је фиксирана на дати податак из литературе; *CL/F* – орални клиренс; *Q/F*- орални клиренс између простора

Табела 5.20 приказује вредности параметара на основу којих се врши процена и избор структуралног модела. На основу вредности критеријума *AIC* и *BIC*, који су имали најниже вредности за модел 2-*COMPprior*, овај модел је одабран као структурални модел. График зависности *CWRES* од времена за одабрани структурални модел дат је на Слици 5.23.

Табела 5.20 Вредности параметара за процену адекватности структуралног модела сиролимуса

Модел	***OFV***	***AIC***	***BIC***
1-COMP	933,4	945,8	966,6
1-COMPprior	903,8	919,8	947,9
2-*COMPprior*	384,0	408,0	450,3

AIC – Акајикеов критеријум; *BIC* – Бејзов критеријум; *OFV* – објективна вредност функције; *1-COMP* - једнопросторни модел са линеарном ресорпцијом и елиминацијом уз фиксирање *Vd/F* и k_{res}; *1-COMPprior* - једнопросторни модел са линеарном ресорпцијом и елиминацијом уз коришћење претходно познатих података о *Vd/F* и k_{res} и њиховој варијабилности; 2-*COMPprior* - двопросторни модел са линеарном ресорпцијом и елиминацијом уз коришћење претходно познатих података о k_{res}



Слика 5.23 Зависност кондиционалних пондерисаних резидуала (*CWRES*) од времена (*TIME*) израженог у сатима од примене последње дозе за основни модел за сиролимус

Интериндивидуална варијабилност у овом структуралном моделу описана је експоненцијалним моделом, а резултати тестирања различитих модела за резидуалну грешку дати су у Табели 5.21.

Табела 5.21 Резултати тестирања различитих модела за резидуалну грешку у моделу 2-*COMPprior* за анализу сиролимуса

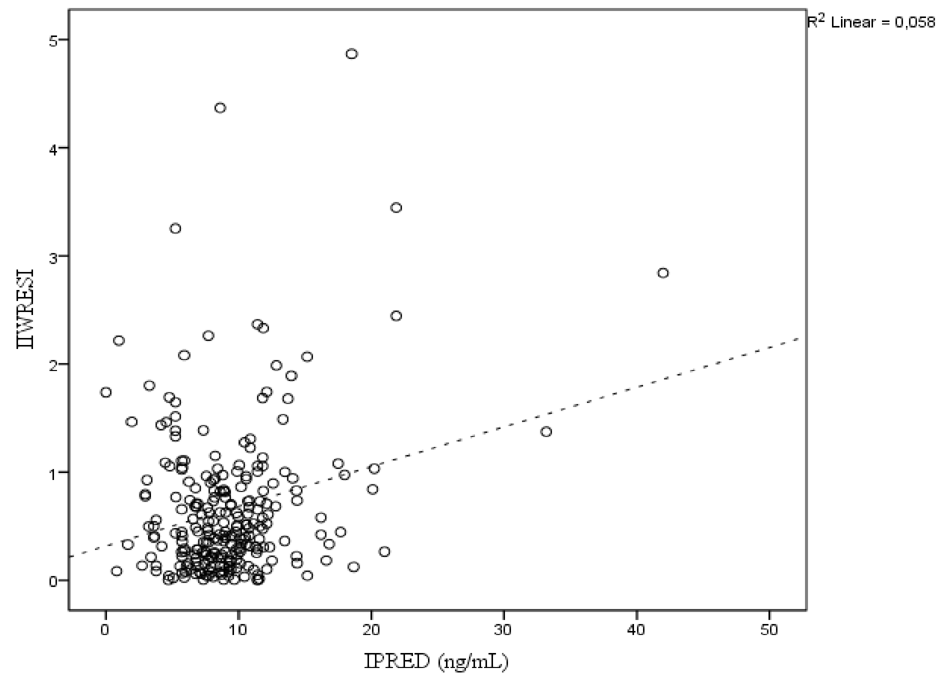
Параметар		**Модел резидуалне грешке**		
		Адитивни	**Пропорционални**	**Комбиновани**
Минимизација		Успешна	Успешна	Успешна
Број места значајности		4,1	3,6	3,3
OFV		434,6	438	384
$\theta_{CL/F}$ (**L/h**)	Процењена вредност	9,303	5,97	8,77
	SE	0,663	0,910	0,712
	95% *CI*	8,001 – 10,59	4,186 – 7,754	7,37 – 10,2
$\theta_{Q/F}$ (**L/h**)	Процењена вредност	21,05	1,83	18,2
	SE	2,57	0,989	3.49
	95% *CI*	15,96 – 26,04	-0.108 – 3.768	11.4 – 25.0
$\theta_{Vc/F}$ (**L**)	Процењена вредност	116,4	104	117
	SE	0,5982	11,7	0,419
	95% *CI*	114,8 – 117,2	81,0 – 126	116 – 118
$\theta_{Vp/F}$ (**L**)	Процењена вредност	546	701	598
	SE	56,2	75,4	35,7
	95% *CI*	435,8 – 656,1	553 – 849	528 – 668
θ_{kres} (h^{-1})	Процењена вредност	2,195	2,19	2,19
	SE	$1,53 \cdot 10^{-5}$	0,000200	$8,9 \cdot 10^{-6}$
	95% *CI*	2,195 – 2,195	2,19 – 2,19	2,19 – 2,19
Интер- индивидуална варијабилност, η	$\omega^2{}_{CL/F}{}^*$	0,1055	0,171	0,139
	$\omega^2{}_{Q/F}{}^*$	0,1037	0,104	0,103
	$\omega^2{}_{Vc/F}{}^*$	0,3050	0,316	0,305
	$\omega^2{}_{Vp/F}{}^*$	0,06632	0,0726	0,0658
	$\omega^2{}_{kres}{}^*$	0,1449	0,145	0,145

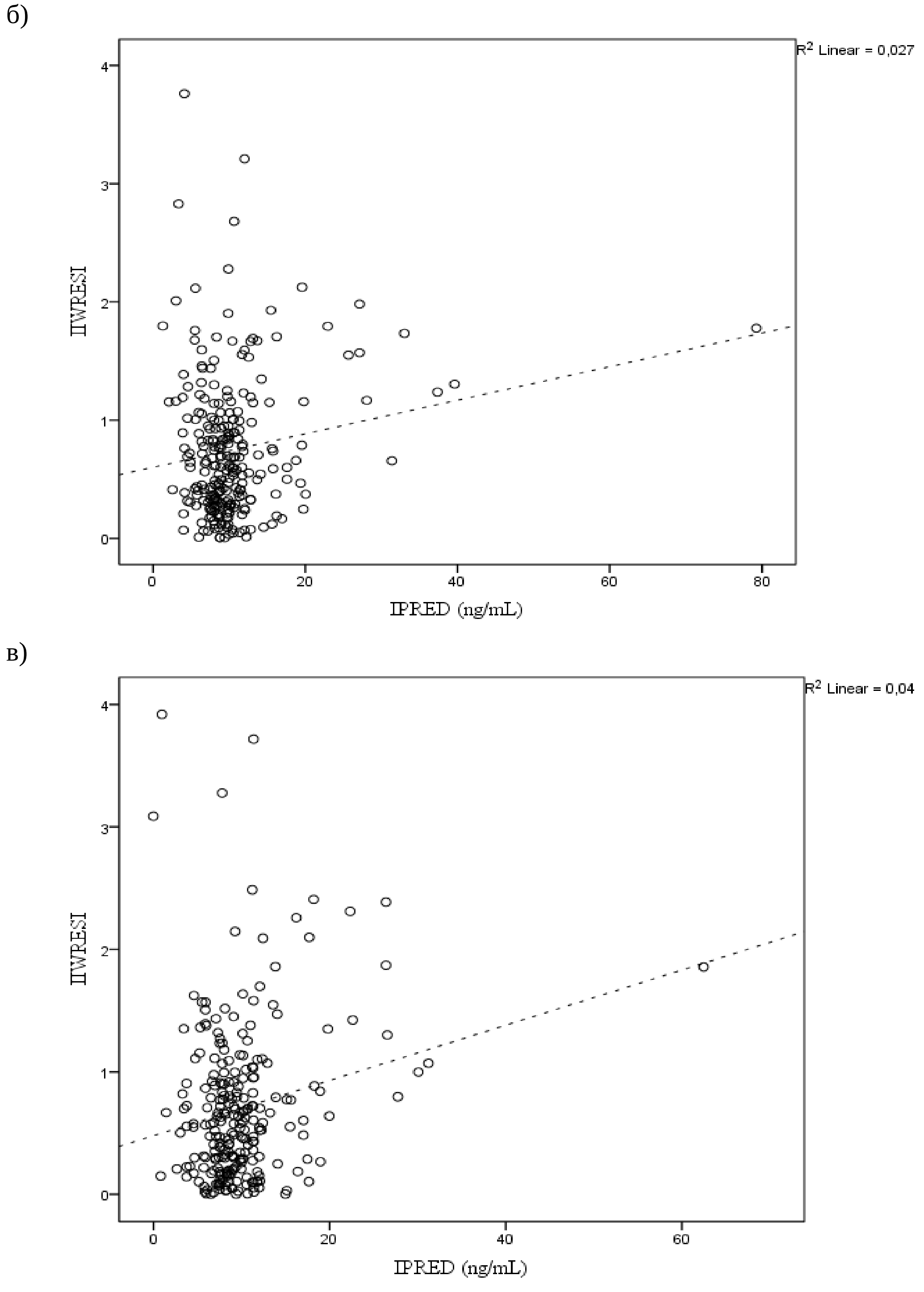
Параметар		**Модел резидуалне грешке**		
		Адитивни	**Пропорционални**	**Комбиновани**
Скупљање у η	$\eta_{shrinkage}\ \omega^2_{CL/F}$ (%)	4,9	8,6	2,8
	$\eta_{shrinkage}\ \omega^2_{Q/F}$ (%)	77,7	40,5	82,8
	$\eta_{shrinkage}\ \omega^2_{Vc/F}$ (%)	87,8	33,4	89,3
	$\eta_{shrinkage}\ \omega^2_{Vp/F}$ (%)	63,6	28,3	69,5
	$\eta_{shrinkage}\ \omega^2_{kres}$ (%)	99,4	96,5	99,6
Резидуална варијабилност, ε	*Wa* (*ng/mL*)	3,797	0 FIX	2,14
	Wp	0 FIX	0,341	0,267
Скупљање у ε	$\varepsilon_{shrinkage}$ (%)	6,075	4,66	5,30

* – варијанса свих η за одређени параметар; *OFV* – објективна вредност функције; *SE* – стандардна грешка; $\theta_{Vc/F}$ – орални волумен централног простора; $\theta_{Vp/F}$ – орални волумен периферног простора; θ_{kres} – константа брзине ресорпције; $\theta_{CL/F}$ – орални клиренс; $\theta_{Q/F}$ – орални клиренс између простора; *Wa* – адитивна грешка; *Wp* – пропорционална грешка; 95% *CI* – 95% интервал поузданости

Графици који се такође могу користити за процену резидуалне грешке дати су на Слици 5.24.

а)





Слика 5.24 Зависност апсолутне вредности пондерисаних резидуала (I*IWRES*I) од индивидуалних предвиђених вредности концентрација (*IPRED*) за: а) адитивни модел, б) степеновани и в) комбиновани модел резидуалне грешке у основном моделу сиролимуса. Испрекидана линија представља регресиону линију.

Табела 5.22 Параметри основног модела за сиролимус

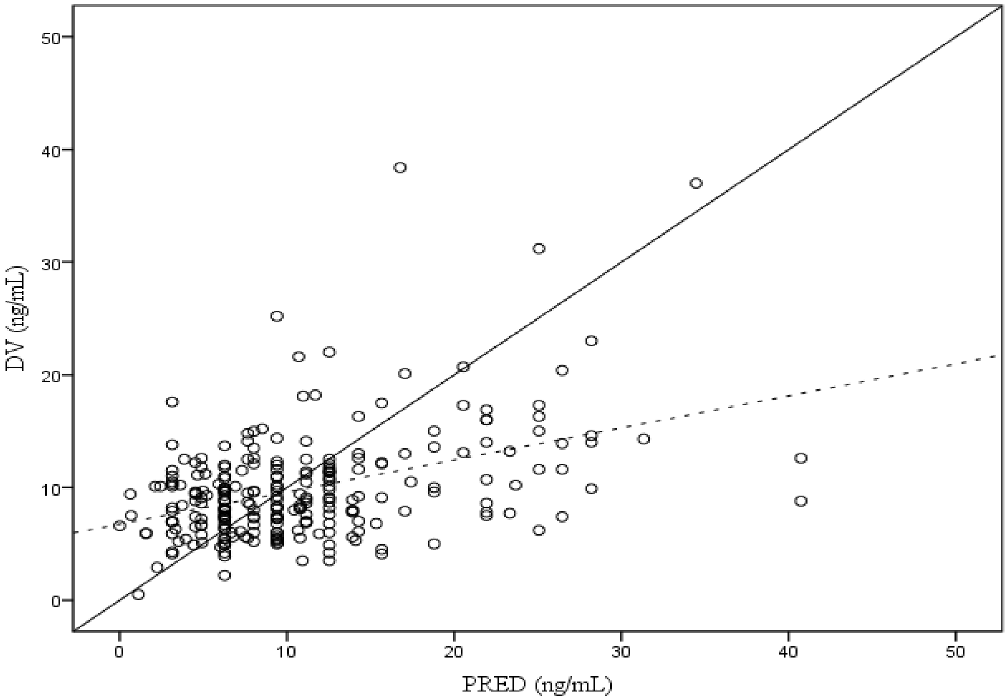
Параметар	**Процењена вредност**	***SE***	***95% CI***
OFV	384	-	-
$\theta_{CL/F}$ (*L/h*)	8,77	0,2128	7,37 – 10,2
$\theta_{Q/F}$ (*L/h*)	18,2	3,49	11,4 – 25,0
$\theta_{Vc/F}$ (*L*)	117	0,419	116 – 118
$\theta_{Vp/F}$ (*L*)	598	35,7	528 – 668
θ_{ka} (h^{-1})	2,19	$8.9 \cdot 10^{-6}$	2,19 – 2,19
$\omega^2_{CL/F}{}^{*}$	0,139	0,0376	0,0650 – 0,213
$CV_{CL/F}$ (%)	37,3	-	25,5 – 46,1
$\omega^2_{Q/F}{}^{*}$	0,103	0,000144	0,102 – 0,103
$\omega^2_{Vc/F}{}^{*}$	0,305	0,000345	0,304 – 0,306
$\omega^2_{Vp/F}{}^{*}$	0,0658	0,000312	0,0652 – 0,0664
$\omega^2_{kres}{}^{*}$	0,145	$1.46 \cdot 10^{-7}$	0,145 – 0,145
***Wa* (*ng/mL*)**	2,14	0,407	1,34 – 2,94
Wp	0,267	0,0404	0,188 – 0,346
$\eta_{shrinkage}\ \omega^2_{CL/F}{}^{**}$ (%)	2,76	-	-
$\eta_{shrinkage}\ \omega^2_{Q/F}{}^{**}$ (%)	82,8	-	-
$\eta_{shrinkage}\ \omega^2_{Vc/F}{}^{**}$ (%)	89,3	-	-
$\eta_{shrinkage}\ \omega^2_{Vp/F}{}^{**}$ (%)	69,5	-	-
$\eta_{shrinkage}\ \omega^2_{kres}{}^{**}$ (%)	99,6	-	-
$\varepsilon_{shrinkage}$ (%)	5,30	-	-

* - варијансе свих интериндивидуалних варијабилности у вредностима наведених параметара; ** - скупљање у вредностима интериндивидуалне варијабилности наведених параметара; *OFV* - објективна вредност функције; *SE* – стандардна грешка; $CV_{CL/F}$ - коефицијент варијације за интериндивидуалну варијабилност у вредностима оралног клиренса; $\varepsilon_{shrinkage}$ – скупљање у вредностима резидуалне варијабилности; $\theta_{Vc/F}$ – орални волумен централног простора; $\theta_{Vp/F}$ – орални волумен периферног простора; θ_{kres} – константа брзине ресорпције; $\theta_{CL/F}$ – орални клиренс; $\theta_{Q/F}$ – орални клиренс између простора; *Wa* – адитивна грешка; *Wp* – пропорционална грешка; *95% CI* – 95% интервал поузданости

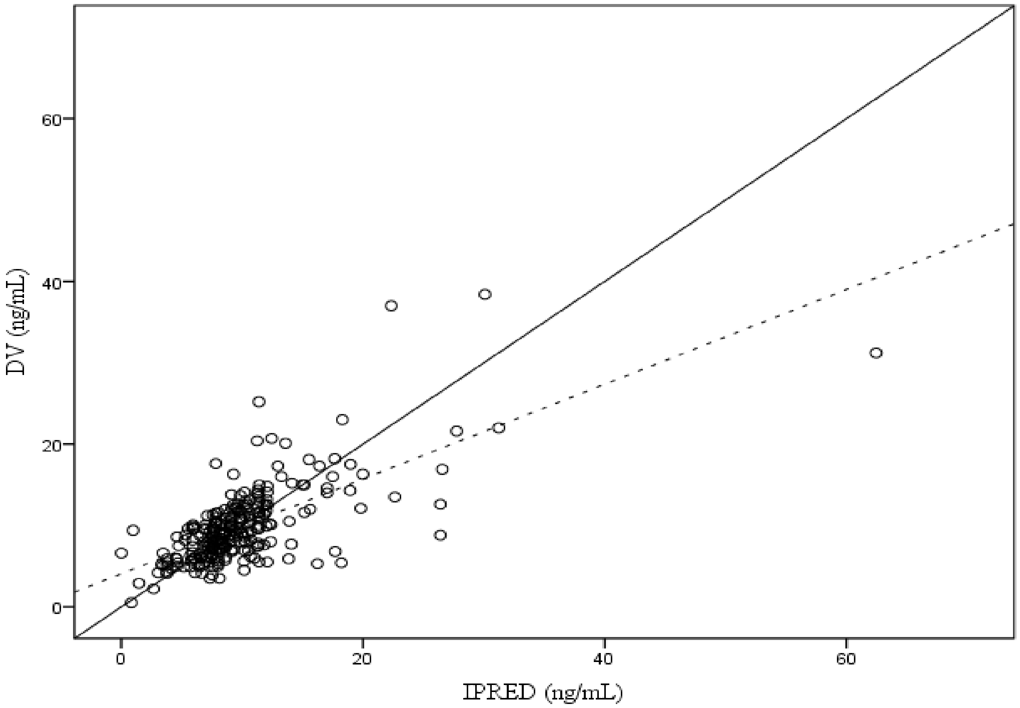
У Табели 5.22 приказане су вредности параметара за, након процене различитих модела за резидуалну грешку, одабрани основни модел сиролимуса. Као основни модел одабран је модел 2-*COMPprior* у коме су интериндивидуална варијабилност и резидуална грешка описани експоненцијалним и комбинованим моделом. Број места значајности у моделу је 3,3.

Процена основног модела преко основних графичких приказа дата је на Слици 5.25.

а)



б)



Слика 5.25 График зависности измерених (*DV*) и: а) популационих (*PRED*), б) индивидуално предвиђених концентрација (*IPRED*) за основни модел сиролимуса

Након дефинисања основног модела испитивани су утицаји потенцијалних фактора варијабилности на *CL/F*. У првом кораку испитиван је утицај различитих модела (линеарни/степеновани) за све коваријате и на основу промене у *OFV* вредности и карактеристикама добијених модела изабрани су модели за тестирање у следећем „кораку унапред“ за сваки испитивани фактор варијабилности. Као параметар јетре тестиран је утицај *AST* јер је пад у вредности *OFV* за ову коваријату био већи него за *ALT* или *ALP*, а очекивано је да вредности ова 3 параметра значајно корелишу. Детаљи даљег тестирања коваријата приказани су у Табели 5.23.

Табела 5.23 Детаљи процеса тестирања коваријата за сиролимус

Корак у анализи	**Модел за поређење (*OFV*)**	**Тестирани модел***	***ΔOFV***	**Циљна вредност (значајност)**
„Кораци унапред“до потпуног модела	Основни модел (384)	*AGE* – 2	10,2	> 3,84 (ДА)
		WT – 5	0,1	> 3,84 (НЕ)
		HCT – 2	0,1	> 3,84 (НЕ)
		AST – 1	30,8	> 3,84 (ДА)
		UP – 5	1,0	> 3,84 (НЕ)
		HOL – 1	1,6	> 3,84 (НЕ)
		TRIG – 2	3,2	> 3,84 (НЕ)
		MMF – 2	6,4	> 3,84 (ДА)
		KORT – 2	0,1	> 3,84 (НЕ)
		GEND – 1	0,3	> 3,84 (НЕ)
	AST (353)	*AGE* – 2	6,6	> 3,84 (ДА)
		MMF – 2	1,7	> 3,84 (НЕ)
	AST + *AGE* (346)	*MMF* – 2	0,7	> 3,84 (НЕ)
„Корак уназад“	*AST* + *AGE* (346)	*AGE* – 0	6,6	> 6,63 (ДА)
		AST – 0	27,1	

* 2 – линеарни модел; 5 – степеновани модел; 1 – категоричка коваријата; 0 – искључивање коваријате из модела; *AGE* – старост; *AST* – аспартат-аминотрансфераза; *GEND* – пол; *KORT* – кортикостероиди; *MMF* – микофенолат мофетил; *TRIG* – триглицериди; *UP* – укупни протеини плазме; *HOL* – укупни холестерол; *HCT* – хематокрит; *WT* – укупна телесна маса

Након испитивања коваријата кроз „кораке унапред“ добијен је потпуни модел који је укључивао утицај коваријате *AST* која је увршћена као категоричка у модел и утицај старости који је описан линеарним моделом. У „корацима уназад“ обе коваријате су задржане у моделу. У финалном моделу добијеном за сиролимус, варијабилност у *CL/F* је делимично објашњена утицајем функције јетре (изражена преко *AST*) и старости. *OFV* вредност добијена за финални модел је 346,6. Број места значајности је 3,6. Једначина добијеног финалног модела за сиролимус дата је обрасцем у Једначини 5.3. У наведеној једначини *AGE* представља број година пацијента, а *AST* може имати вредност 1 (ако су вредности *AST* веће од физиолошких, > 37 *IU/L*) или 0 (за физиолошке вредности,

$AST \leq 37$ *IU/L*). Процењене вредности параметара финалног модела приказане су у Табели 5.24.

$$CL/F = 12.2 \cdot \theta_{AST}{}^{AST} \cdot \left(1 + \frac{AGE}{44} \cdot \theta_{AGE}\right)$$ Једначина 5.3

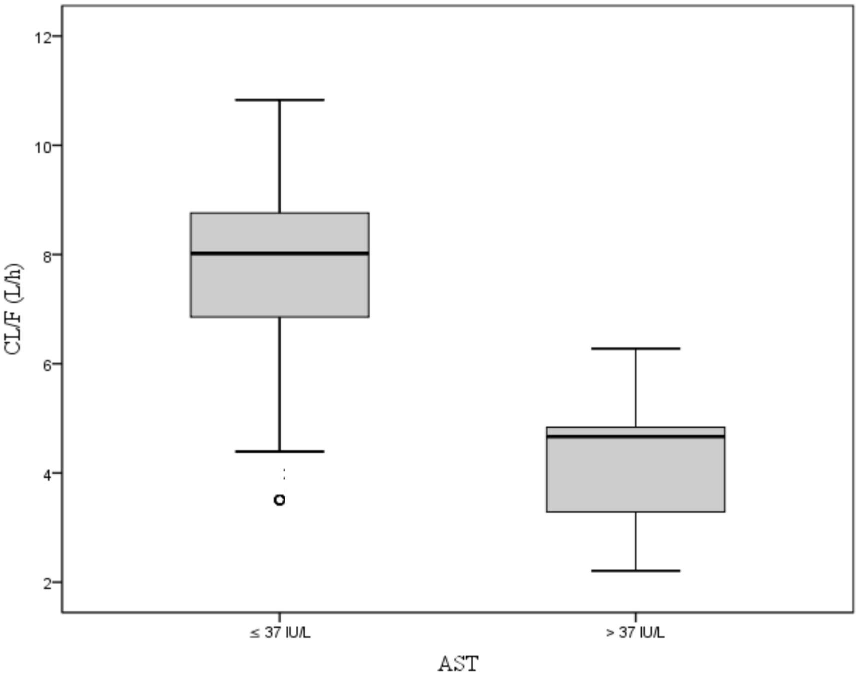
Табела 5.24 Параметри финалног модела за сиролимус

Параметар	**Процењена вредност**	***SE***	***95% CI***
OFV	346	-	-
$\theta_{CL/F}$ (*L/h*)	12,2	2,54	7,22 – 17,2
$\theta_{Q/F}$ (*L/ h*)	5,07	2,48	0,209 – 9,93
$\theta_{Vc/F}$ (*L*)	118	2,54	113 – 123
$\theta_{Vp/F}$ (*L*)	609	38,7	533 – 685
θ_{kres} (h^{-1})	2,19	$4{,}79 \cdot 10^{-5}$	2,19 – 2,19
θ_{AST}	0,630	0,0548	0,523 – 0,737
θ_{AGE}	-0,388	0,117	-0,617 – -0,159
$\omega^2{}_{CL/F}{}^*$	0,0547	0,0177	0,0200 – 0,0894
$CV_{CL/F}$ (%)	23,4	0,003159	14,1 – 29,9
$\omega^2{}_{Q/F}{}^*$	0,103	0,000479	0,102 – 0,104
$\omega^2{}_{Vc/F}{}^*$	0,306	0,00271	0,300 – 0,311
$\omega^2{}_{Vp/F}{}^*$	0,0657	0,000282	0,0651 – 0,0662
$\omega^2{}_{kres}{}^*$	0,145	$1.28 \cdot 10^{-6}$	0,145 – 0,145
Wa	1,93	0,263	1,415 – 2,445
Wp	0,25	0,032	0,187 – 0,313

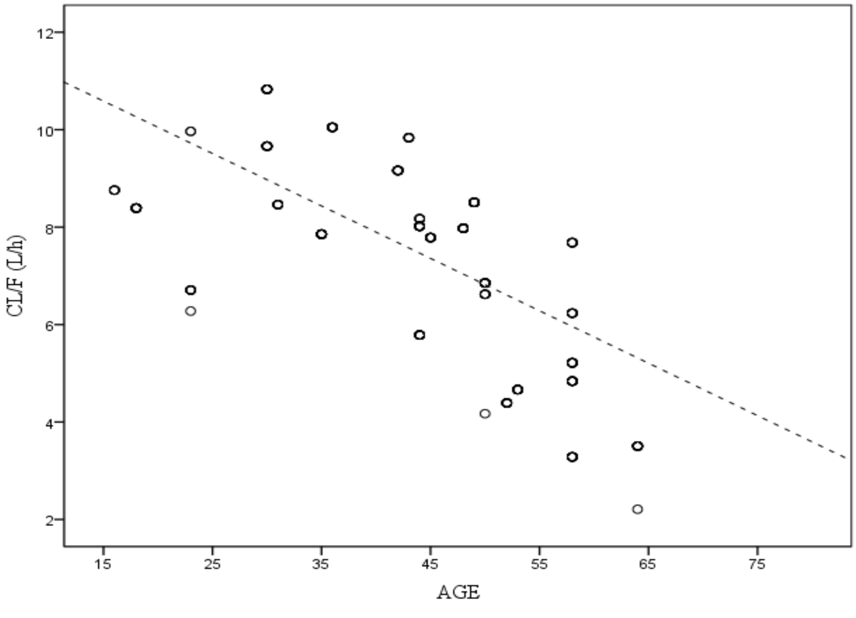
Параметар	**Процењена вредност**	***SE***	***95% CI***
$\eta_{shrinkage}\,\omega^{2}_{CL/F}{}^{**}$ **(%)**	13,9	-	-
$\eta_{shrinkage}\,\omega^{2}_{Q/F}{}^{**}$ **(%)**	77,5	-	-
$\eta_{shrinkage}\,\omega^{2}_{Vc/F}{}^{**}$ **(%)**	48,3	-	-
$\eta_{shrinkage}\,\omega^{2}_{Vp/F}{}^{**}$ **(%)**	76,3	-	-
$\eta_{shrinkage}\,\omega^{2}_{kres}{}^{**}$ **(%)**	98,6	-	-
$\varepsilon_{shrinkage}$ **(%)**	5,45	-	-

*- варијансе свих интериндивидуалних варијабилности у вредностима наведених параметара; ** - скупљање у вредностима интериндивидуалне варијабилности наведених параметара; *OFV* - објективна вредност функције; *SE* – стандардна грешка; $CV_{CL/F}$ - коефицијент варијације за интериндивидуалну варијабилност у вредностима оралног клиренса; $\varepsilon_{shrinkage}$ – скупљање у вредностима резидуалне варијабилности; θ_{AGE} – утицај старости; θ_{AST} – утицај функције јетре изражен преко *AST*; $\theta_{Vp/F}$ – орални волумен периферног простора; $\theta_{Vc/F}$ – орални волумен централног простора; θ_{kres} – константа брзине ресорпције; $\theta_{CL/F}$ – орални клиренс; $\theta_{Q/F}$ – орални клиренс између простора; *Wa* – адитивна грешка; *Wp* – пропорционална грешка; *95% CI* – 95% интервал поузданости

Процењена просечна вредност *CL/F* сиролимуса у финалном моделу за типичног пацијента је 12,2 *L/h*. Интериндивидуална варијабилност у овом моделу процењена је на 23,4%. Индивидуалне вредности *CL/F* сиролимуса прерачунате на основу финалног модела у популацији испитиваних пацијената крећу се у распону 2,21 – 10,8 *L/h*. Фактори чији утицај се показао значајним и који је квантификован кроз финални модел су старост и функција јетре изражена преко *AST*. Према финалном моделу, пацијенти код којих је *AST* изнад физиолошких вредности (> 37 *IU/L*) имају нижу вредност *CL/F* сиролимуса за 37% у просеку (12,2 у односу на 7,69). Са старошћу, према развијеном моделу, долази до смањења *CL/F* сиролимуса. Зависност индивидуалних вредности *CL/F* сиролимуса и коваријата приказана је на Сликама 5.26 и 5.27.



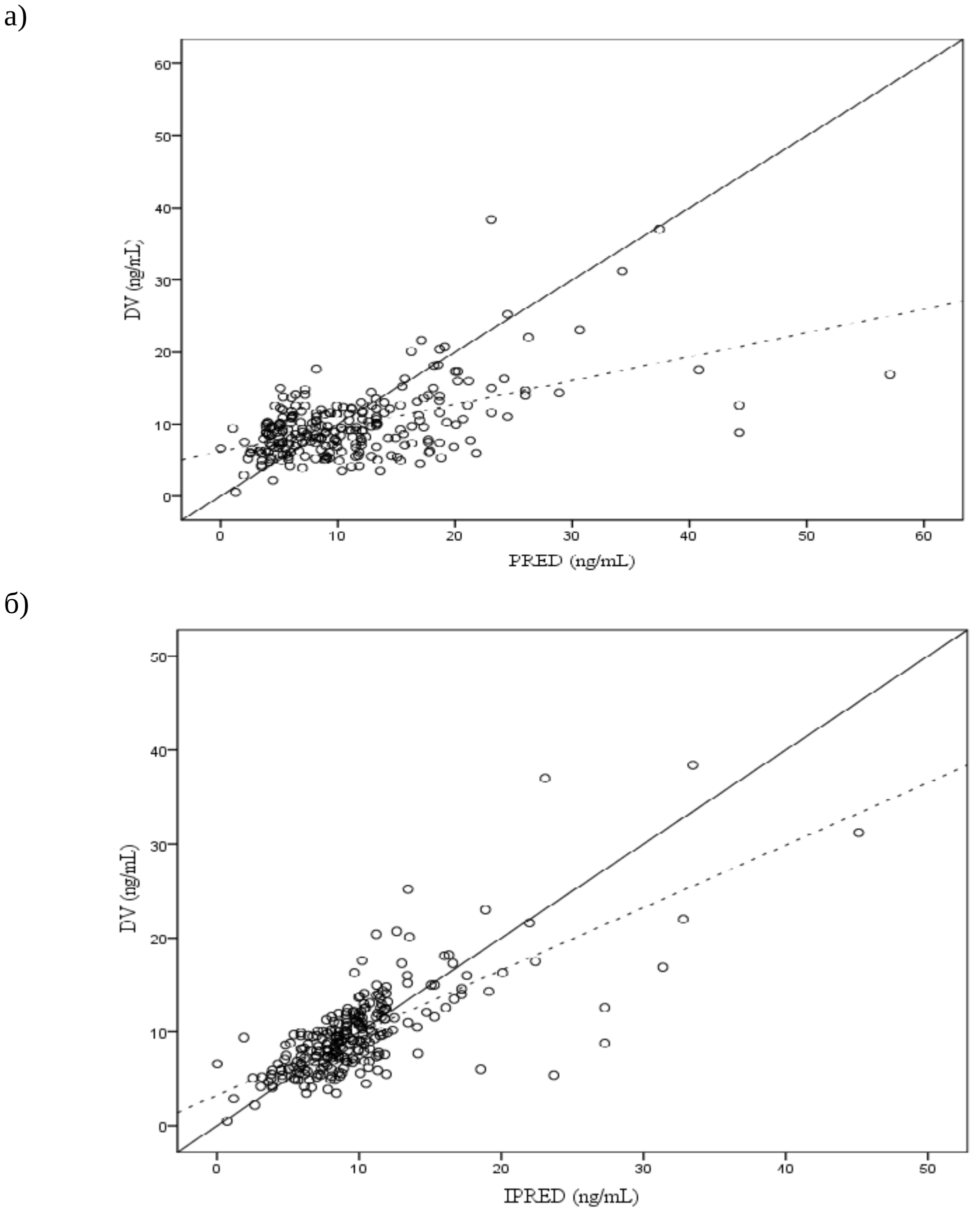
Слика 5.26 Зависност индивидуалних вредности оралног клиренса сиролимуса (*CL/F*) функције јетре, изражене преко аспартат-аминотрансферазе (*AST*), према финалном моделу



Слика 5.27 Зависност индивидуалних вредности оралног клиренса сиролимуса (*CL/F*) и старости (*AGE*), изражене у годинама, према финалном моделу. Испрекидана линија представља дату зависност дефинисану једначином модела.

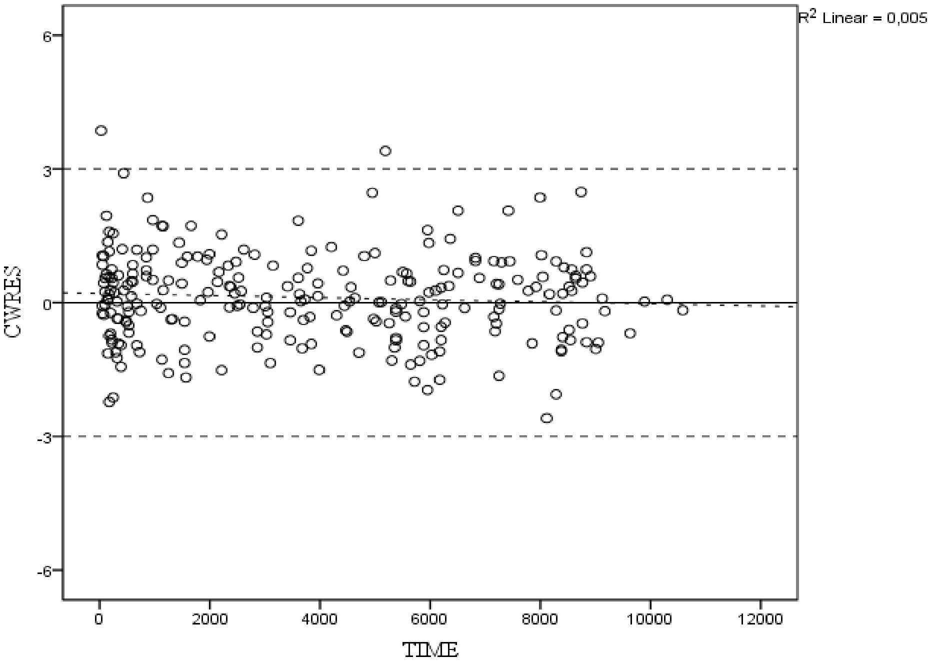
5.2.3. Валидација развијеног модела за сиролимус

Основни графици за процену ваљаности развијеног финалног модела за сиролимус дати су на Сликама 5.28 и 5.29.

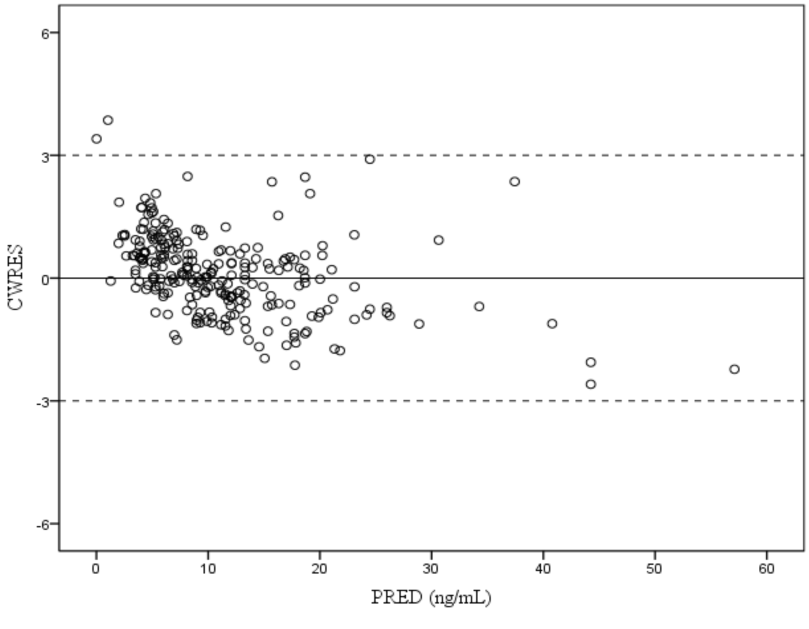


Слика 5.28 График зависности измерених (*DV*) и: а) популационих (*PRED*), б) индивидуално предвиђених концентрација (*IPRED*) за финални модел сиролимуса. Пуна линија представља линију идентичности, а испрекидана регресиону линију.

а)



б)



Слика 5.29 Зависност кондиционалних пондерисаних резидуала (*CWRES*) од а) времена (*TIME*) израженог у сатима од примене последње дозе и б) популационих предвиђених концентрација (*PRED*) сиролимуса за финални модел

Развијени финални модел за сиролимус валидиран је техникама интерне и екстерне валидације.

5.2.3.1. Интерна валидација финалног модела за сиролимус

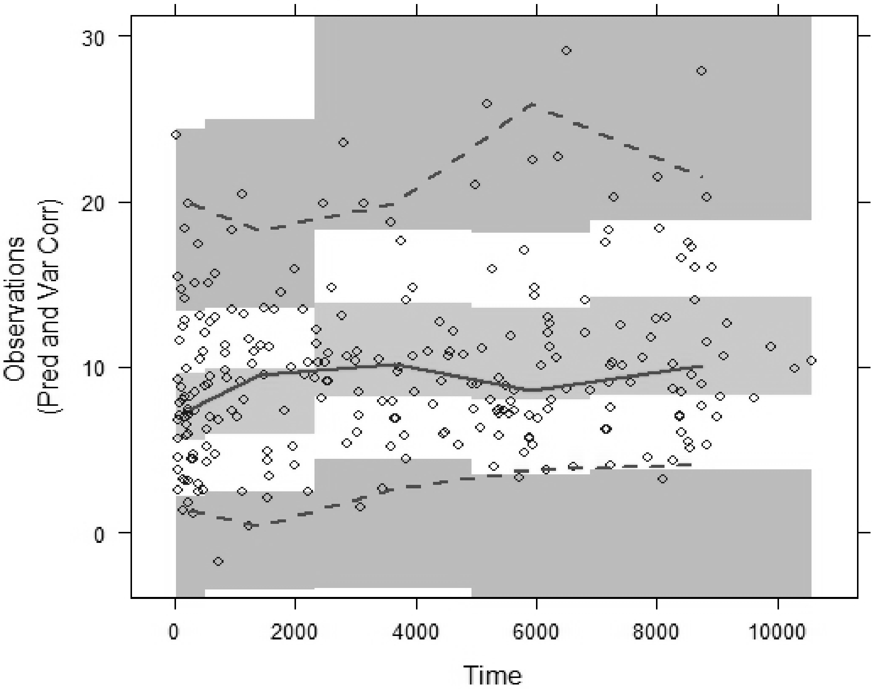
Развијени модел валидиран је кроз више техника интерне валидације: *Bootstrapping*, *pvcVPC* и *NPC*.

У техници *Bootstrapping* успешна минимизација је била за 995 репликата од 1000 задатих. Резултати добијени на основу успешних 995 тестирања модела дати су у Табели 5.25. Вредности параметара добијене на основу *Bootstrapping* узорака не разликују се значајно у односу на процењене вредности на основу оригиналног сета података. Резултати добијени применом *pvcVPC* и *NPC* техника на 1000 симулација дати су на Сликама 5.30 и 5.31.

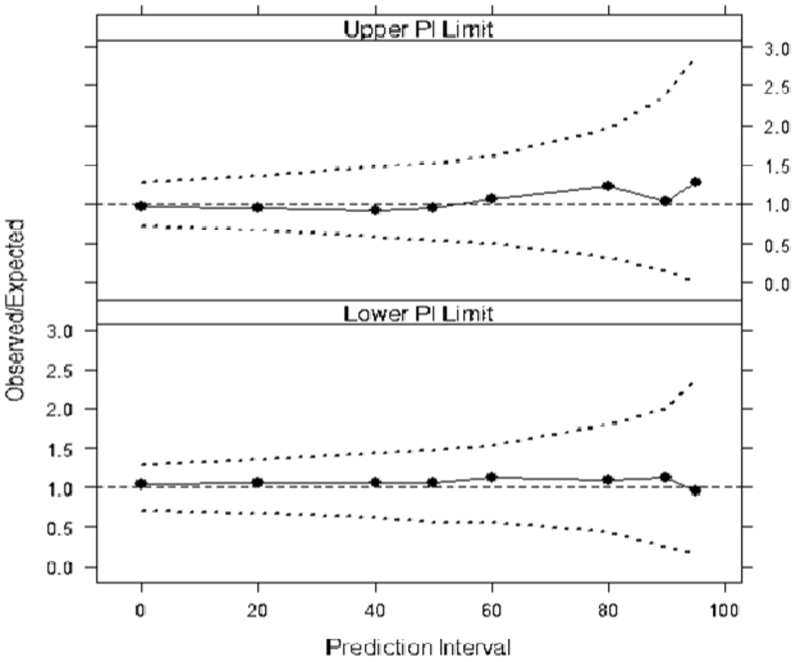
Табела 5.25 Резултати *Bootstrapping* методе за финални модел за сиролимус

Параметар	**Медијана**	**95% *CI***
$\theta_{CL/F}$ **(*L/h*)**	12,5	8,54 – 21,2
$\theta_{Q/F}$ **(*L/h*)**	5,55	2,43 – 23,4
$\theta_{Vc/F}$ **(*L*)**	117	112 – 121
$\theta_{Vp/F}$ **(*L*)**	608	530 – 673
θ_{kres} **(h^{-1})**	2,19	2,19 – 2,19
θ_{AST}	0,626	0,550 – 2,12
θ_{AGE}	-0,386	-0,551 – -0,0277
$\omega^2{}_{CL/F}{}^*$	0,0549	0,0171 – 0,114
$\omega^2{}_{Q/F}{}^*$	0,103	0,102 – 0,104
$\omega^2{}_{Vc/F}{}^*$	0,306	0,301 – 0,316
$\omega^2{}_{Vp/F}{}^*$	0,0656	0,0650 – 0,0669
$\omega^2{}_{kres}{}^*$	0,145	0,144 – 0,144
***Wa* (*ng/mL*)**	1,92	0,316 – 2,38
Wp	0,251	0,161 – 0,316

* - варијансе свих интериндивидуалних варијабилности у вредностима наведених параметара; θ_{AGE} – утицај старости; θ_{AST} – утицај функције јетре изражен преко AST; $\theta_{Vp/F}$ – орални волумен периферног простора; $\theta_{Vc/F}$ – орални волумен централног простора; θ_{kres} – константа брзине ресорпције; $\theta_{CL/F}$ – орални клиренс; $\theta_{Q/F}$ – орални клиренс између простора; *Wa* – адитивна грешка; *Wp* – пропорционална грешка; *95% CI* – 95% интервал поузданости



Слика 5.30 Предикционо и за варијабилност кориговaна визуелна процена предиктивности (*prediction- and variability-corrected visual predictive check – pvcVPC*), кориговане концентрације (*ng/mL*) у зависности од времена (*TIME*) за финални модел сиролимуса. Пуна и испрекидане линије представљају медијану, 5. и 95. перцентил измерених концентрација са засенченим 95% интервалима поузданости за одговарајуће интервале предикције базиране на симулацијама.



Слика 5.31 Нумеричка предиктивна процена (*Numerical Predictive Check – NPC)* за финални модел сиролимуса. Кругови представљају доњи и горњи лимит предикције (%) добијен на основу оригиналних података. Испрекидане линије представљају 95% интервал поузданости за доњи и горњи лимит предикције (%) на основу симулираних података.

5.2.3.2. Екстерна валидација финалног модела за сиролимус

Екстерна валидација урађена је на сету података добијеном од 13 пацијената чије су карактеристике приказане у Табели 5.18. На основу развијеног финалног модела приказаног у Једначини 5.3 и карактеристика пацијената из групе за валидацију модела вршено је предвиђање концентрација сиролимуса. Предвиђене концентрације су поређене са измереним и рачунати су параметри валидације *MPE* и *RMSPE* према Једначинама 2.22 и 2.23. Вредности параметара валидације приказани су у Табели 5.26. На основу приказаних вредности параметара екстерне валидације може се закључити да се финалним моделом може вршити предвиђање концентрација сиролимуса са прихватљивом тачношћу јер *95% CI* за *MPE* укључује 0. Вредност од 4,71 *ng/mL* за *RMSPE* указује на прихватљиву прецизност.

Табела 5.26 Параметри екстерне валидације финалног модела за сиролимус

Параметар	**Вредност**	**95% CI**
MPE	-1,77	-3,81 – 0,25
RMSPE	4,71	2,71 – 6,08
MPE - средња грешка предвиђања; *RMSPE* - корен из квадрата средње грешке предвиђања; *95% CI* – 95% интервал поузданости		

6. Дискусија

У оквиру овог истраживања, применом популационог приступа у анализи података добијених рутинским праћењем такролимуса и сиролимуса у пацијената са трансплатираним бубрегом, испитивана је фармакокинетичка варијабилност ових лекова са фокусом на идентификацију и квантификацију фактора варијабилности, као и развој и валидацију популационих фармакокинетичких модела за дате лекове, у датој популацији.

6.1. Популациона фармакокинетичка анализа – основни модели за такролимус и сиролимус

Сви подаци у оквиру овог истраживања, као што је и наведено у методологији у делу 4.1, прикупљени су кроз рутинско праћење пацијената након трансплантације. Према локалном протоколу који је у сагласности са важећим светским препорукама (10), *TDM* такролимуса и сиролимуса подразумевао је мерење C_{trough}. За све пацијенте укључене у истраживање забележен је већи број C_{trough}, па се дакле, према дизајну узорковања, ово истраживање може сврстати у студије са тзв. *multiple-trough* дизајном узорковања (описан у тачки 2.1). Таквом протоколу студије и природи податка погодује фармакокинетичка анализа применом популационог приступа (91, 110). Популациона фармакокинетичка анализа јесте моћно оруђе за анализу оскудних података као што су подаци добијени из *TDM* – а, а то потврђују и резултати овог истраживања.

Подаци добијени као део *TDM* – а по дизајну узорковања могу бити или *single-trough sampling* или *multiple-trough sampling*. С обзиром да је показано да се већ са 2 узорка по пацијенту значајно повећава тачност и прецизност у процени параметара популационом анализом као и могућност развијања сложенијег модела (118), *multiple-trough sampling* дизајн је одабран као адекватнији за истраживања у оквиру ове дисертације. Тако се у случају оба лека, за сваког пацијента чији су подаци укључени у истраживање, располагало са најмање 2 податка о C_{trough}. Број мерених концентрација по пацијенту за такролимус се разликовао у случају анализе података за рани посттрансплантациони период (просечно 19 мерења за сваког пацијента) и за период од приближно годину након трансплантације (у просеку 2,5 концентрације по пацијенту). Оваква разлика се може објаснити протоколом за *TDM* према коме су учесталост мерења концентрација и време протекло од трансплантације обрнуто сразмерни. У случају сиролимуса просечан број мерених концентрација по пацијенту је око 10, опет у складу са протоколом за *TDM* овог лека. Иако се располагало са релативно великим бројем узорака које је требало анализирати, њихова природа (сви узорци C_{trough}) ограничавала је ипак број фармакокинетичких параметара које је било могуће процењивати. Како је описано и у делу методологије, анализа оваквих података захтева коришћење екстерних већ познатих података, било кроз фиксирање на очекиване вредности параметара који се не могу проценити са адекватном тачношћу и прецизношћу, било коришћењем претходно познатих података о вредностима параметара и њиховој варијабилности (79, 110, 115, 119). Такролимус и сиролимус су примењивани *p.o.* путем тако да су се, у теорији, могли процењивати параметри процеса ресорпције, расподеле и елиминације. Ипак, подаци који се састоје из само C_{trough} информативни су само у толикој мери да се на основу њих са адекватном тачношћу и прецизношћу може проценити *CL/F*. С обзиром да је *CL/F* значајан у постављању и корекцији дозног режима, фокус овог истраживања и јесте била процена вредности овог параметра, као и идентификација фактора његове варијабилности у испитиваној популацији.

Фармакокинетика такролимуса је описана једнопросторним моделом са линеарним процесом ресорпције и елиминације што је у складу са до сада објављеним студијама (4, 43, 45-47, 50, 120-123). У литератури се могу пронаћи и модели у којима се фармакокинетика такролимуса описује и двопросторним моделом, али ниједна од студија није била по дизајну слична овој, већ се радило о студијама са већим бројем узорака у оквиру једног интервала дозирања тј. са *full sampling* дизајном (38-40, 42, 48, 49, 51, 124). Предност једнопросторном моделу са линеарном ресорпцијом и елиминацијом дале су све студије у којима су коришћени оскудним подаци (4, 43, 45, 47, 50, 120-123), а чак и једна студија са богатим подацима (46). Вредности параметара k_{res} и Vd/F у оквиру структуралног модела који је коришћен у истраживању у оквиру ове докторске дисертације, за описивање фиксиране су на литературне вредности. Овакав приступ анализи оскудних података омогућава адекватну процену CL/F и његове интериндивидуалне варијабилности, као и идентификацију и квантификацију фактора који на њу утичу (110, 111), што и јесте део циљева истраживања спроведених у оквиру ове дисертације. Фиксирање вредности $k_{res,}$ у ситуацији када нису доступни подаци из фазе ресорпције, не утиче значајно на резултате параметара популационог модела (125). Симулације Вејда и сарадника показале су да је Vd/F осетљива на погрешно фиксирану k_{res} ако постоје и мерења из фазе ресорпције поред узорака из фазе елиминације (125). Дакле, како су у овом истраживању сви подаци одговарали C_{trough} приступ фиксирања вредности k_{res} и Vd/F је прихватљив и обезбеђује адекватну процену CL/F и његове интериндивидуалне варијабилности. На графицима зависности *CWRES* од времена (Слике 5.2 и 5.11) може се видети да је већина вредности *CWRES* између -3 и +3, као и да не постоји тренд, што показује да је за структурални модел адекватан избор једнопросторног модела уз фиксирање параметара.

За популациону анализу сиролимуса као структурални модел адекватним се показао двопросторни модел, како за податке који су подразумевали већи број узорака у различитим моментима у оквиру интервала дозирања, тако и у студијама у којима је већина узорака одговарала C_{trough} (77-79). Како се ипак у литератури могу пронаћи и модели у којима се фармакокинетика сиролимуса описује једнопросторним моделом (80), приликом избора модела за фитовање података из ове студије тестирани су и једнопросторни и двопросторни модел (методологија, тачка 4.3.2). На основу приказаних резултата (тачка 5.2.2) као структурални модел изабран је двопросторни модел у који су инкорпорирани претходно познати подаци о вредностима свих параметара и њиховим варијабилностима изузев испитиваног *CL/F*. Овакав одабир модела се пре свега може образложити вредностима критеријума приказаним у Табели 5.20. Одабрани модел карактерише вредност *BIC* за 497,6, односно 516,3 мања у односу на друга два тестирана модела. Смањење у вредностима *AIC* и *BIC* за 2 се већ сматра значајним, а смањење у *BIC* за > 10 сматра се веома јаким доказом да је модел са нижом вредношћу супериорнији (100). Зависност *CWRES* од времена (Слика 5.23) не показује тренд и *CWRES* вредности се групишу око 0 у распону -3 – +3. Дакле, за фитовање концентрација сиролимуса у функцији времена у овој студији као адекватнији се показао сложенији фармакокинетички модел, а за инкорпорирање екстерних података бољом се показала техника употребе претходно познатих вредности за параметре и њихову варијабилност, што је у потпуности у сагласност са резултатима Данзирикула и сарадника (79).

Као што је наведено у Уводу, тачка 2.1, на избор методе процене утиче више фактора, а међу њима и природа података и циљ студије. Показано је да *FOCE* метод у односу на *FO* пружа бољу могућност процене *CL/F* и варијабилности када се располаже оскудним подацима (83, 110). Осим тога утврђено је да употреба *FO* метода процене испитивања фактора варијабилности и грађења коваријатних модела може довести до погрешног укључивања већег броја коваријата (83). Како су подаци у овој студији били по природи оскудни, а у складу са тим, и циљ истаживања дефинисан као испитивање фактора варијабилности, пре свега у *CL/F* такролимуса и сиролимуса, јасно је зашто је за метод процене у току моделовања коришћен *FOCEI*.

Као модел резидуалне грешке у оквиру основног модела за рани посттрансплантациони период за такролимус одабран је адитивни модел. Како је модел у коме је резидуална грешка описана пропорционалним моделом карактерисала неуспешна минимизација, избор је вршен између адитивног и комбинованог модела. У Табели 5.5 може се видети да одабрани модел карактерише нешто боља прецизност у процени параметара, као и нешто нижа интериндивидуална варијабилност у *CL/F*. Регресионе линије зависности I*IWRES*I од *IPRED* за адитивни и за комбиновани модел не показују значајан тренд и вредности коефицијента детерминације (R^2) су приближне, 0,004 за адитивни у односу на 0,005 за комбиновани модел (Слика 5.3). У процесу моделовања података такролимуса за период од приближно годину дана од трансплантације, резидуална грешка описана је пропорционалним моделом, пре свега због ниже вредности у *OFV* и мање вредности у скупљању јер је прецизност у процени параметара (Табела 5.10) као и зависности I*IWRES*I од *IPRED* приближно истих карактеристика (Слика 5.12).

Дефинисани основни модели за такролимус за оба временска периода задовољавају све критеријуме за процену модела (увод, део 2.3.1). Основни модел за рани посттрансплантациони период карактерише број значајних места од 4,1, одсуство η и ε скупљања (0,9236% и 4,855%), а и основни графици (Слике 5.2 и 5.4) су задовољавајућих облика. И у случају анализе података за период од приближно годину дана од трансплантације број значајних места у основном моделу је ≥ 3, нема значајног η и ε скупљања (2,916% и 18,02%) и графици (Слика 5.11 и 5.13) потврђују адекватност развијеног основног модела.

У процесу развоја основног модела за сиролимус, такође су тестирани различити модели резидуалне грешке. За све тестиране моделе (адитивни, пропорционални и комбиновани) забележена је успешна минимизација. Комбиновани модел карактерише најнижа вредност *OFV* и η скупљања. Пропорционални модел није одабран као модел грешке због неодговарајуће прецизности у процени параметара, а између адитивног и комбинованог модела одабран је комбиновани због ниже вредности у ε скупљању и нешто ниже вредности R^2 за зависност I*IWRES*I од *IPRED* (Табела 5.21 и Слика 5.24). Дефинисани основни модел задовољава критеријуме за процену (број места значајности 3,3, η скупљање од 2,76% и ε скупљање 5,30%). Графичка процена, такође потврђује адекватност одабраног модела (Слике 5.23 и 5.25).

Развијен и процењен основни модел омогућава и процену фактора варијабилности и дефинисање финалног модела што је, у складу са дефинисаним циљевима дисертације, био наредни корак у истраживањима.

6.2. Фактори фармакокинетичке варијабилности и финални модел за такролимус

У оквиру испитивања фармакокинетичке варијабилности такролимуса разматран је и испитиван утицај више различитих фактора: *PDAY*, *WT*, *AGE*, *GEND*, *SECR*, *HCT*, *UP*, *ALP*, *AST*, *ALT*, *MMF*, *KORT*, *DTAC*, *CBLOK*, *DIPIN*, *RANI*, *OMEP* и *STAT*. Резултати тестирања различитих фактора за рани посттрансплантациони период и период од приближно годину дана након трансплантације приказани су у тачки 5.1.2. У првим месецима након трансплантације, као значајни фактори, од којих зависи вредност *CL/F* такролимуса, показали су се *PDAY, WT, HCT, UP* и *AST*. У периоду од приближно годину дана након трансплантације мањи број фактора се показао значајним и то *WT* и *DTAC*.

Телесна маса је једна од најчешће испитиваних интринзичких коваријата у фармакокинетичким студијама (83). Заступљеност овог фактора у истраживању варијабилности лекова је последица чињенице да фармакокинетички параметри зависе од величине организма, а сматра се да параметри који дефинишу величину (телесна маса, висина, површина тела) треба да буду примарни параметри у процесу испитивања (126). Утицај телесне масе се у процесу моделовања може тестирати у виду утицаја *WT*, идеалне телесне масе, телесне масе без масти (*FFM*) или мишићне телесне масе. Телесна маса се у популационим моделима развијеним за такролимус може наћи као фактор варијабилности параметара свих процеса, ресорпције, расподеле и елиминације (38, 39, 43, 44). Неки аутори су утицај масе тесирали преко *WT* (43, 44), а неки преко *FFM* (38, 39). Фармакокинетички параметри на чију варијабилност је доказан утицај телесне масе су време одлагања ресорпције (t_{lag}), *Q/F*, *Vc/F Vp/F*, *Vd/F* и *CL/F* (38, 39, 43, 44). У оквиру овог истраживања телесна маса је тестирана као *WT* и њен утицај се показао значајним. Према резултатима овог истраживања *CL/F* такролимуса се повећава са повећањем *WT*, како у раном посттрансплантационом периоду, тако и касније (Табела 5.9, Слике 5.6 и 5.15).

Старост, као и телесна маса, спада у интринзичке коваријате чији се утицај често испитује у популационим фармакокинетичким студијама јер се многе физиолошке функције мењају са годинама старости (83). Старост се обично тестира као континуирана коваријата, мада се може тестирати и као категоричка, када се популација категоризује најчешће на педијатријску, одрасле и старије испитанике (83). Старост може корелирати са телесном масом, што је посебно изражено у педијатријској популацији, када се препоручује да у модел прво буде уврштена телесна маса или неки други параметар величине, а тек затим тестиран утицај старости (83, 126). Утицај старости на *CL/F* такролимуса показан је кроз популациони модел развијен од стране Пасеја и сарадника (4). У овом истраживању утицај старости на *CL/F* такролимуса је тестиран за рани посттрансплантациони период и није било значајног утицаја. Старост се покаже као значајна коваријата, обично онда када је распон година у испитиваној популацији велики (83). Разлика у карактеристикама испитиваних популација може бити разлог за разлику у резултатима између ове дисертације и Пасеја и сарадника. Наиме, популацију укључену у ово испитивање за рани посттрансплантациони период је карактерисала просечна старост од 39 ± 11 година, док су у студији Пасеја и сарадника пацијенти били нешто старији (50,2 ± 12,2 година) (4). С обзиром да је распон старости у популацији укљученој у истраживање варијабилности за период од приближно годину дана од трансплантације био врло сличан, али нешто ужи у односу на пацијенте у раном посттрансплантационом периоду (20 – 61 у односу на 16 – 60), за ову субпопулацију у студији, утицај старости није ни тестиран као коваријата.

Иако су забележене разлике међу половима у фармакокинетичким карактеристикама свих процеса (127), пол није коваријата која се често сусреће у популационим моделима, као што се и за највећи број лекова не може пронаћи препорука за различито дозирање код жена и мушкараца. Утицај пола је вероватно последица анатомских, физиолошких, биохемијских и ендокриних разлика између полова (127). У оквиру овог истраживања процентуална заступљеност полова била је приближна, и значајан утицај на *CL/F* такролимуса није показан. Ни у другим популационим фармакокинетичким студијама пол није идентификован као значајан фактор варијабилности у *CL/F* (4, 39-51, 53), али је у једној студији показан утицај овог фактора на биолошку расположивост такролимуса (38).

HCT је једна од најчешћих коваријата у популационим моделима за такролимус (39-41, 43, 44, 47-50, 123, 128). Та чињеница не изненађује обзиром да се такролимус у значајној мери накупља у еритроцитима (12, 21). Сторсет и сарадници *HCT* сматрају кључним фактором у интерпретацији концентрација такролимуса које су мерене у пуној крви (38). Финални модел развијен за рани посттрансплантациони период дефинише инверзну зависност између *CL/F* такролимуса и *HCT* (Табела 5.9, Слика 5.7) што је у потпуности у сагласности са претходно објављеним резултатима других аутора (40, 41, 43, 44, 47-50, 123, 128). У истраживању варијабилности *CL/F* такролимуса у популацији стабилних пацијената у периоду од приближно годину дана након трансплантације, утицај *HCT* се није показао као значајан. Вероватни разлог томе јесте мања варијабилност у вредностима *HCT* у овој популацији и њихов ужи распон (Табела 5.3). Смањење вредности у *CL/F* такролимуса са повећањем вредности *HCT* се може објаснити познатим фармакокинетичким карактеристикама такролимуса. Такролимус је лек са ниским клиренсом (око 3% протока крви кроз јетру) и његов *CL/F* зависи од степена везивања лека за еритроците или протеине (12, 28, 36). Треба напоменути да је *HCT* фактор варијабилности у вредностима концентрација такролимуса у пуној крви, а да се не очекује утицај на невезану фракцију лека јер се не мења интринзички хепатички клиренс слободног лека (36).

Аналогно утицају *HCT,* очекује се и утицај протеина плазме за које се такролимус везује у фракцији од 99% (26). Смањење *CL/F* са порастом албумина показано је резултатима више студија (120, 123, 129). Познато је да се такролимус примарно везује за α_1 кисели гликопротеин, липопротеине, глобулине и албумин (26, 27). Захир и сарадници су показали да слободна концентрација такролимуса корелише са нивоима α_1 киселог гликопротеина и *HDL* холестерола (130). У складу са тим, у оквиру овог устраживања као потенцијална коваријата по први пут је тестиран утицај *UP*, а не само албумина. Као и вредности *HCT*, и *UP* вредности је карактерисала мања варијабилност у популацији стабилних пацијената. Вредности *UP* у пацијената у раном посттрансплантационом периоду кретале су се у распону 38 – 137 *g/L* (63,23 ± 7,99) , а у групи пацијената за испитивање варијабилности након годину дана од трансплантације распон вредности био је 63 – 80 *g/L* (71,76 ± 3,70). Отуда се значајност утицаја *UP* на *CL/F* такорлимуса показала само за период од првих 6 месеци након трансплантације. Развијени модел за тај временски период након трансплантације дефинише пораст *CL/F* такролимуса са порастом *UP* (Табела 5.9, Слика 5.9). Промена у *CL/F* према добијеној једначини модела (Једначина 5.1) је у просеку 10,4% при порасту *UP* са минималне измерене вредности на горњу референтну вредност (референтни распон *UP* за методу коришћену у лабораторији у којој су вршене све анализе и мерења је 62 – 81 *g/L*). Разлог за овакву, неочекивану релацију између *CL/F* и *UP* може бити скок у вредностима α_1 киселог гликопротеина у првим данима након операције када су *UP* генерално ниски. Како је α_1 кисели гликопротеин, протеин акутне фазе, пораст његових вредности се очекује као одговор на системску повреду ткива, инфламацију или инфекцију (131). Више вредности α_1 киселог гликопротеина забележене су у различитим болестима и стањима, у пацијената са траумом, тешким опекотинама, у популацији прималаца костне сржи или након трансплантације органа (132). Додатно, вредности α_1 киселог гликопротеина могу порасти као последица високих доза кортикостероида у првим данима након траснплантације (131-133), а протокол имуносупресивне терапије након трансплантације, према коме су лечени сви пацијенти укључени у ово истраживање, подразумевао је баш такву примену кортикостероида.

Како се такролимус елиминише примарно путем метаболичких трансформација посредством изоензима *CYP 3A*, очекивано је да промене у функцији ензима и јетре могу утицати на вредности фармакокинетичких параметара. У раном посттрансплантационом периоду, према добијеном моделу, постоји негативна корелација између *CL/F* такролимуса и параметра за процену функције јетре *AST* (Табела 5.9, Слика 5.8). Резултати истраживања у оквиру ове дисертације су у сагласности са претходно објављеним студијама (47, 50, 120, 134). У групи стабилних пацијената за период од око годину дана након трансплантације све вредности *AST* су биле у референтном опсегу па се овај фактор није могао ни очекивати у финалном моделу развијеном за ту популацију. Што се тиче утицаја активности самих изоензима *CYP 3A*, у више студија је доказан утицај полиморфизма изоензима *CYP 3A5* на фармакокинетику такролимуса (4, 38-44, 46, 49, 51, 53). Заправо, генетички полиморфизам *CYP 3A5* био је део финалних модела за израчунавање *CL/F* такролимуса добијених у свим студијама које су тестирале његов утицај као коваријату. Показано је да пацијенте са израженијом активношћу овог изоензима карактеришу и веће вредности *CL/F*, а повећање је одређено генотипом (*CYP3A5*1/*1 > CYP3A5*1/*3 > CYP3A5*3/*3*) (4, 38-44, 46, 49, 51, 53). Неке скорашње студије ипак указују на то да полиморфизам *CYP 3A5* можда није једини релевантан генетички маркер који треба разматрати и сугеришу посматрање полиморфизма *CYP 3A*, тј. истовремену генотипизацију *CYP 3A4* и *CYP 3A5* (52, 135). Финални модел развијен од стране Преса и сарадника, осим утицаја *CYP 3A5*, укључује и утицај полиморфизма нуклеарног рецептора *PXR* (53). Утицај *PXR* рецептора на *CL/F* се објашњава чињеницом да овај протеин регулише експресију изоензима *CYP 3A* и *P – gp* и посредује у њиховој индукцији (136, 137). Полиморфизам *P – gp* је део и финалног модела развијеног од стране Мусуамбе и сарадника (49). Значајно више концентрације такролимуса забележене су у пацијената код којих је утврђена истовремена експресија *CYP3A5*3/*3* и *P – gp G2677A* мутације на ексону 21 (138). Иако постоји велики број доказа о значају генетичког полиморфизма у објашњењу фармакокинетичке варијабилности такролимуса, његово рутинско тестирање се не препоручује према протоколима већине трансплантационих центара. Протокол према коме се прате пацијенти укључени у ово истраживање не укључује рутинско одређивање полиморфизма, а како су према методологији истраживања коришћени само рутински добијени подаци они нису укључивали информације о полиморфизму и тај фактор варијабилности није ни испитиван.

На основу чињенице да се такролимус обимно метаболише, на његову елиминацију се, осим функције јетре и активности ензима, очекује и утицај истовремено примењених лекова. Иако је у више студија утицај истовремене примене кортикостероида показао утицај на *CL/F* такролимуса (4, 45, 53), у овом истраживању утицај поменуте коваријате се није нашао у развијеним финалним моделима. Утицај истовремено примењених кортикостероида се објашњава индукционим потенцијалом на изоензиме *CYP 3A* (35, 139, 140). Разлог што се у овој студији нису нашли у финалном моделу се може тражити у врло униформном дозирању. Наиме, сви пацијенти су примењивали исте дозе кортикостероида за одређени период након трансплантације, па је утицај тј. очекивано повећање *CL/F* такролимуса било исто код свих пацијената. И остали истовремено примењивани лекови који су тестирани у овом истраживању као потенцијални фактори варијабилности (*CBLOK*, *DIPIN*, *RANI*, *OMEP* и *STAT*) нису показали значајан утицај. Разлог томе може бити релативно мали број пацијената који су били на комбинованој терапији, а и генерално мали број пацијената укључених у студију. Мало снижење у вредностима *CL/F* такролимуса при истовременој примени са блокаторима калцијумских канала забележено је и у студији Пасеја и сарадника који су примену било ког лека из групе блокатора калцијумских канала посматрали као једну коваријату (4). Утицај дилтиазема и никардипина на *CL/F* такролимуса је показан у једној студији (50). У обе ове студије број укључених пацијената био је већи у односу на истраживање спроведено у оквиру ове дисертације.

Време након трансплантације је једна од најчешћих коваријата у популационим моделима развијеним за такролимус (4, 43-47, 50). Према моделу развијеном у овом истраживању вредност *CL/F* се смањује са временом након трансплантације, и то за у просеку 4,4% након 15 дана, 6,3% након месец и 10,9% након 6 месеци (Табела 5.9, Слика 5.5). Процењена нижа вредност *CL/F* код типичног пацијента у моделу за период од приближно годину дана након трансплантације у односу на развијени модел за рани посттрансплантациони период (Табеле 5.8 и 5.13) указује на оправданост укључивања времена као коваријате у модел. Смањење *CL/F* у времену се може објаснити или повећањем биолошке расположивости или повећањем вредности *HCT* и албумина услед стабилизације стања пацијената након операције (4, 129). Такође, сви пацијенти укључени у ово истраживање су, као што је већ поменуто, у првим данима након трансплантације добијали високе дозе кортикостероида чија је примена настављана уз одговарајуће смањење доза и можда се њихов утицај управо изразио кроз ову коваријату. Значајније смањење у вредностима *CL/F* у данима након трансплантације, у односу на резултате овог истраживања описано је моделом Пасеја и сарадника (4). Ова разлика се може објаснити чињеницом да модел развијен у истраживању које је део ове дисертације укључује и раније описан утицај *HCT*, који није испитиван у студији Пасеја и сарадника (4).

Као коваријата у финалном моделу за период од приближно годину дана након трансплантације нашла се и дневна доза такролимуса (Једначина 5.2). Утицај дозе такролимуса је уврштен у модел пре свега због стабилности самог модела. Највероватније објашњење за овакав утицај дозе на *CL/F* јесте тзв. *TDM* ефекат објашњен од стране Ана и сарадника (141). Када студија има дизајн такав да су подаци пореклом из *TDM* – а, као што је случај са овим истраживањем, корелација између дозе и *CL/F* се јавља јер су дозе одређиване тј. титриране тако да се мерене концентрације одрже у жељеном распону (141). Стога, треба бити обазрив са дефинисањем нелинеарности у кинетици лека на основу присуства дозе лека у моделу.

Оба финална модела развијена за такролимус у оквиру ове дисертације су процењена и валидирана. Поређењем прецизности у процени параметара (Табеле 5.6, 5.8, 5.11 и 5.13) и графика (Слике 5.2, 5.4, 5.11, 5.13, 5.16, 5.17, 5.19 и 5.20) за основне и финалне моделе види се да је укључивање коваријата унапредило моделе, смањило интериндивидуалну варијабилност и побољшало предиктивност. Укључивањем коваријата у модел за рани посттрансплантациони период интериндивидуална варијабилност је смањена и преостала варијабилност од 15,22% би се вероватно додатно смањила испитивањем полиморфизма у испитиваној популацији. Тестирање генетичког полиморфизма *CYP 3A* и *P – gp* и њихово уврштивање у модел, уз идентификоване факторе варијабилности кроз ово истраживање, врло вероватно би објаснило већи степен интериндивидуалних разлика у *CL/F* такролимуса у популацији пацијената са трансплантираним бубрегом (12, 121, 142-144). Графици зависности *DV vs. PRED* и *DV vs. IPRED* (Слика 5.16) за финални модел за рани посттрансплантациони период показују присуство грешке у предвиђању. Ако се погледа график *CWRES vs DV* (Слика 5.17) види се да су одступања у предвиђању највећа за концентрације > 30 *ng/mL*. Могуће објашњење јесте чињеница да је биоаналитичка метода којом су концентрације мерене валидирана за распон 2 – 30 *ng/mL* и да се веће вредности концентрација мере како је описано у делу методологије, тачка 4.2. На графику *CWRES vs PRED* (Слика 5.20) за финални модел за период од приближно годину дана након трансплантације, види се да су све вредности *CWRES* до 4 за разлику од истог графика (Слика 5.17) за рани посттрансплантациони период, што иде у прилог претходном појашњењу заснованом на грешкама мерења, јер распон C_{trough} у популацији стабилних паијената је од 2,6 – 19,6, а у подацима за првих 6 месеци након трансплантације 2,4 – 57,2. Боље предикционе карактеристике финалног модела, у односу на основни модел за рани посттрансплантациони период, показане су и техником интерне валидације *pvcVPC* (Слика 5.18), а у групи стабилних пацијената прихватљива предиктивност финалног модела приказана је, такође, једном од техника интерне валидације *NPC* (Слика 5.21). Робусност оба финална модела развијена за такролимус доказана је применом технике *Bootstrapping*. Параметри модела добијени на основу вредности добијених из тестирања модела на репликатима (Табеле 5.14 и 5.15) не разликују се значајно у односу на вредности параметара модела које су добијене из оригиналних података (Табеле 5.8 и 5.15).

6.3. Фактори фармакокинетичке варијабилности и финални модел за сиролимус

Резултати испитивања утицаја различитих фактора варијабилности на *CL/F* сиролимуса приказани су у тачки 5.2.2. Као потенцијални фактори варијабилности тестиране су следеће коваријате: *WT, AGE, GEND, HCT, UP, ALP, AST, ALT, HOL, TRIG, MMF* и *KORT*. Значајан утицај показали су и уврштени су у финални модел *AGE* и *AST*.

Утицај телесне масе на елиминацију сиролимуса тестиран је као утицај *WT*. Иако су вредности *WT* у популацији пацијената који су укључени у испитивање биле врло варијабилне, 77,07 ± 18,76 *kg* , са распоном 44 – 128 *kg* (Табела 5.16), *WT* није показала значајан утицај на *CL/F* сиролимуса. Овакав резултат је у сагласности са до сада објављеним студијама (77-80). Ферон и сарадници су утврдили позитивну корелацију између *WT* и *Vp/F*, али не и *WT* и *Vc/F*. Сиролимус карактерише врло обимна расподела у организму, значајно изражена у адипозно ткиво, са посечним вредностима *Vd/F* у стању равнотеже на основу података из пуне крви у распону 9 – 17 *L/kg*, што објашњава утицај *WT* на пре свега *Vp/F* (63, 145).

Утицај старости на фармакокинетику сиролимуса тестиран је у свим до сада објављеним студијама, а и у истраживању у оквиру ове дисертације (77-80). Према резултатима овог истраживања *CL/F* сиролимуса се, очекивано, смањује са годинама старости (Једначина 5.3). Овај резултат је у сагласности са резултатима Данзирикула и сарадника (79). Разлог што друге студије, Дјебли и сарадници и Јиао и сарадници (78, 80), нису идентификовале утицај ове коваријате може бити мали проценат старијих пацијената у испитиваним популацијама, тј. непостојање нормалне дистрибуције у вредностима година старости. Пацијенти укључени у истраживање, спроведено као део ове дисертације, имали су у просеку 43 ± 13 године, у распону 16 – 64 (Табела 5.16). Млађих од 30 година било је 24%, а старијих од 50 година 32% што указује на то да је дистрибуција броја година у испитиваној популацији адекватна за процену утицаја старости. И у студији Данзирикула и сарадника медијана старости била је 44, а распон 22 – 73 године, са 25% пацијената старијих од 50 година (79). Промена у вредности *CL/F* сиролимуса између најмлађег (16 година) и најстаријег (64 године) пацијента укљученог у ово истраживање износи око 49%. Овакав прилично значајан утицај старости може се само делимично објаснити добро познатим физиолошким променама са годинама живота. Како су и ово и истраживање Данзирикула и сарадника укључивали прилично мали број пацијената, потребно је истражити утицај старости у већој популацији како би се потврдио и објаснио утицај овог фактора варијабилности.

Са аспекта утицаја пола на фармакокинетику сиролимуса, резултати овог истраживања су у сагласности са осталим литературним подацима у којима се утицај поменутог фактора не препознаје као значајан (63, 146).

Сходно фармакокинетичким карактеристикама лека (описаним у Уводу, тачка 1.2.2.2), високом везивању за еритриците и протеине плазме, а пре свега липопротеине очекивао се утицај *HCT*, *UP*, *HOL* или *TRIG*. Ипак, значајна корелација између наведених коваријата и испитиваног фармакокинетичког параметра није идентификована. Само у једној од претходно објављених студија утицај *HOL* се појављује у финалном моделу за *CL/F* сиролимуса (80). Према резултатима те студије, ниже вредности *CL/F* сиролимуса имају пацијенати са већим вредностима *HOL* што се објашњава смањењем слободне фракције сиролимуса доступне за метаболизам (80). Свакако, за лек фармакокиентичких карактеристика као што је сиролимус, очекивано је да се утицај ових коваријата одрази на укупну концентарацију лека, али не и на слободну (36).

Сиролимус, као и такролимус, се примарно елиминише путем јетре и метаболичких трансформација, па се као потенцијални фактори варијабилности свакако очекују и функција јетре, генетички полиморфизам и истовремена примена лекова који се метаболишу посредством истих изоензима *CYP*-а. У оквиру овог истраживања није се располагало подацима о генетичком полиморфизму, ни ензима ни *P – gp*, из раније наведених разлога. Дјебли и сарадници су у свом моделу показали значајан утицај полиморфизма изоензима *CYP 3A5* (78). Према њиховим резултатима пацијенти код којих није изражена активност овог ензима имали су *CL/F* сиролимуса од 14,1 *L/h* у односу на 28,3 *L/h* у популацији пацијената са израженом активношћу изоензим *CYP 3A5* (78). Овакав значајан утицај генетског полиморфизма захтева даље истраживање с обзиром да је број пацијената укључених у студију Дјеблија и сарадника био релативно мали, свега 22. Додатно, након укључивања утицаја полиморфизма у модел, преостала је прилично велика необјашњена интериндивидуална варијабилност у моделу, у просеку око 49,3% (78).

Истовремена примена осталих имуносупресивних лекова, који су део тројне терапије, нема значајан утицај на *CL/F* сиролимуса према резултатима овог истраживања. Значајан утицај на *CL/F* сиролимуса, у до сада објављеним популационим студијама, показан је за истовремену примену циклоспорина, силимарина и глициризина (80). Повећање C_{trough} циклоспорина за сваких 100 *ng/mL* доводи до благог смањења *CL/F* сиролимуса за око 4,5% (80). Значајније смањење *CL/F* сиролимуса, за око 34%, показано је у популацији пацијената који су истовремено примењивали силимарин или глицеризин (80). *In vitro* истраживања показала су да ови биљни лекови показују инхибиторни ефекат на изоензим *CYP 3A4* и *P – gp* (147-150). Ови лекови се традиционално примењују за хепатопротекцију и у обољењима јетре (151, 152). Стога је тешко са сигурношћу тврдити да ли је до тако значајног снижења у *CL/F* сиролимуса дошло услед инхибиторних способности биљних лекова или због ослабљене функције јетре код испитиваних пацијената или је, пак, смањење *CL/F* резултат адитивног ефекта наведених фактора.

Према развијеном финалном моделу у истраживању фактора варијабилности сиролимуса у оквиру ове дисертације, између *CL/F* сиролимуса и функције јетре, постоји негативна корелација. Аналогно истраживању такролимуса, и у случају сиролимуса, у финалном моделу је функција јетре изражена преко нивоа ензима *AST*. Утврђена веза између *CL/F* сиролимуса и *AST*, као параметра функције јетре је очекивана, сходно већ наведеним фармакокинетичким карактеристикама сиролимуса и у сагласности је са резултатима претходно објављених истраживања (75, 76). Утицај *AST* је уврштен у модел као категоричка коваријата (референтне вредности / повишене вредности), а гранична вредност била је 37 *IU*/*L*. Према развијеном моделу, ослабљена функција јетре (*AST* > 37 *IU*/*L*) доводи до смањења *CL/F* сиролимуса за, у просеку, 37%. У студији Зимермана и сарадника до значајног смањења *CL/F* сиролимуса долазило је у пацијената са благим (за 31,8%) и осредњим оштећењем јетре (за 36,0%) у односу на популацију здравих испитаника (75). Према сажетку карактеристика лека за сиролимус, у популацији пацијената са благим и осредњим оштећењем јетриних функција, када се процена изврши *Child-Pugh*[*] скором, *CL/F* је мањи за 33% у односу на здраве одрасле испитанике (61). Популациони модел развијен за сиролимус у оквиру ове дисертације први квантификује утицај рутински праћеног параметра јетре на *CL/F*. Резултати овог истраживања указују на потребно пажљиво праћење и евентуално кориговање режима дозирања сиролимуса и при благим повећањима нивоа *AST*.

Развијени финални модел за сиролимус је процењен и валидиран техникама интерне и екстерне валидације. Како су у процесу развоја модела коришћене претходно познате вредности параметара ресорпције и расподеле, као и подаци о њиховој варијабилности, значајно је упоредити коришћене вредности (Табела 5.19) са моделом процењеним вредностима (Табела 5.24). У вредности параметра k_{res} није било никакве промене што се могло и очекивати с обзиром на природу података који су коришћени у анализи. Оскудни подаци добијени из *TDM* – а нису садржали информације о процесу ресорпције, па је и вредност параметра за тај порцес остала непромењена. Када се погледају подаци о параметрима расподеле, примећују се промене у медијанама, а и сужења интервала поузданости параметара. То указује да су подаци са којима се располагало, иако добијени из *TDM* – а, ипак били у извесној мери информативни за процес расподеле. Ипак, фокус је био на процени варијабилности у *CL/F* лека због значајности тог параметра у индивидуализацији терапије.

Идентификација значајних коваријата и њихово уврштавање у модел, довело је до смањења интериндивидуалне и резидуалне варијабилности (Табеле 5.22 и 5.24). Да финални модел има боље карактеристике у односу на развијени основни модел може се видети и поређењем основних графика за ове моделе (Слике 5.23, 5.25, 5.28 и 5.29).

---

[*] *Child-Pugh* скор – користи се за процену прогнозе хроничне болести јетре и укључује 5 клиничких параметара (ниво укупног билирубина, ниво укупних протеина у плазми, вредност протромбинског времена, присуство асцитеса и присуство енцефалопатије.

Робусност финалног модела доказана је применом технике *Bootstrapping*. Вредности параметара добијене на основу *Bootstrapping* репликата не разликују се значајно у односу на процењене вредности на основу оригиналних података. Способност предвиђања модела за сиролимус валидирана је и техникама интерне и екстерне валидације. Обе технике интерне валидације, и *pvcVPC* (Слика 5.30) и *NPC* (Слика 5.31) су показале прихватљиву предиктивност добијеног модела. Параметри израчунати на основу екстерне валидације потврђују да добијени модел може предвиђати концентрације сиролимуса са задовољавајућом тачношћу и прецизношћу (Табела 5.26).

6.4. Могућност примене популационих фармакокинетички модела и њихов значај

На основу резултата валидације свих финалних модела развијених у оквиру ове докторске дисертације, може се закључити да се сви ови модели могу применити за процену индивидуалних вредности *CL/F* такролимуса и сиролимуса на основу демографских и биохемијских параметара који су фактори у финалним моделима. И такролимус и сиролимус се дозирају на основу мерених концентрација у оквиру *TDM* – а, које зависе од *CL/F*. Развијени и валидирани модели који су резултати истраживања спроведених у оквиру ове дисертације могу се инкорпорирати у стандардни процес *TDM* – а са циљем предвиђања индивидуалних вредности параметара. На основу индивидуалних вредности фармакокинетичких параметара, пре свега *CL/F*, може се израчунати доза лека коју је потребно дати пацијенту како би се постигла жељена концентрација лека.

Савремена фармакотерапија тежи управо индивидуалном приступу у лечењу пацијента. Познавање фармакокинетичких карактеристика, тј. вредности фармакокинетичких праметара је потребно за постављање и кориговање дозног режима. Идентификовање фактора варијабилности у фармакокинетици лека, као што је урађено за такролимус и сиролимус у истраживањима у оквиру ове дисертације, омогућава процену индивидуалних вредности фармакокинетичких параметара и, као што је већ речено, израчунавање индивидуално прилагођене дозе лека. Осим фармакокинетичке варијабилности, битно место у терапији има и варијабилност у самом ефекту лека тј. фармакодинамичка варијабилност. За процену фармакодинамичке варијабилности у ефекту потребно је прво пронаћи одговарајући параметар за процену интензитета самог ефекта лека. То није увек лако и имуносупресивни лекови јесу пример лекова за које је тешко измерити интензитет ефекта. Значајно унапређење развијеним популационим фармакокинетичким финалним моделима био би развој адекватних фармакодинамичких модела, тј. развој интегрисаних фармакокинетичких / фармакодинамичких модела. Један такав модел омогућава боље разумевање варијабилности у односу доза – концентрација – ефекат и индивидуализацију режима дозирања према идентификованој и квантификованој варијабилности, како фармакокинетичкој, тако и фармакодинамичкој. Још увек није развијен адекватан фармакокинетички / фармакодинамички модел за такролимус и сиролимус у популацији пацијената са трансплантираним бубрегом што је подстицај и путоказ за даља истраживања.

7. Закључци

На основу изнетих резултата овог истраживања, а у складу са дефинисаним циљевима, могу се извести следећи закључци:

1. Популациони фармакокинетички приступ омогућио је описивање интериндивидуалне варијабилности у оралном клиренсу такролимуса и сиролимуса у пацијената са трансплантираним бубрегом.

2. Финални модели за израчунавање оралног клиренса такролимуса у првих шест месеци након трансплантације бубрега, као и у периоду од приближно годину дана од трансплантације, валидирани су техникама интерне валидације *Bootstrapping*, *pvcVPC* и *NPC* чиме је доказана њихова стабилност и добра предиктивна способност. Финални модел сиролимуса валидиран је и техникама интерне и екстерне валидације и доказана је робусност и задовољавајућа предиктивност.

3. Идентификовани су значајни фактори варијабилности оралног клиренса такролимуса у периоду првих 6 месеци након трансплантације, и то: укупна телесна маса, хематокрит, укупни протеини плазме, функција јетре изражена преко нивоа аспартат-аминотрансферазе и број посттрансплантационих дана.

4. Укупна телесна маса и дневна доза такролимуса идентификовани су као значајни фактори варијабилности у оралном клиренсу такролимуса за период од приближно годину дана након трансплантације.

5. Према финалном моделу развијеном за сиролимус, значајни фактори варијабилности у оралном клиренсу су године старости пацијента и функција јетре изражена преко нивоа ензима аспартат-аминотрансферазе.

6. Примена добијених валидираних модела такролимуса и сиролимуса омогућава израчунавање индивидуалних вредности оралног клиренса, фармакокинетичког параметра који је основ за индивидуализацију режима дозирања лекова у циљу оптимизације терапије.

8. Литература

1. Watson CJ, Dark JH. Organ transplantation: historical perspective and current practice. *Br J Anaesth*. 2012; 108 Suppl 1: i29-42.

2. Nobel Pize. Available from: http://www.nobelprize.org/nobel_prizes/medicine/laureates/1912/.

3. Morris PJ. Transplantation--a medical miracle of the 20th century. *N Engl J Med*. 2004; 351(26): 2678-80.

4. Passey C, Birnbaum AK, Brundage RC, Oetting WS, Israni AK, Jacobson PA. Dosing equation for tacrolimus using genetic variants and clinical factors. *Br J Clin Pharmacol*. 2011; 72(6): 948-57.

5. Sayegh MH, Carpenter CB. Transplantation 50 years later--progress, challenges, and promises. *N Engl J Med*. 2004; 351(26): 2761-6.

6. Blagojevic-Lazic R. Kidney transplantation in Yugoslavia and other Balkan countries. *Nephrol Dial Transplant*. 2001; 16 Suppl 6: 142-3.

7. Hrvačević R. Život sa presađenim bubregom, vodič za bolesnike. 2004.

8. Radivojevic D, Blagojevic R, Milutinovic D, Simis S, Ristic S, Naumovic R, et al. Rezultati lečenja transplantiranih bubrega u Centru za transplantaciju bubrega Kliničkog Centra Srbije od osnivanja do danas (1980. - 2010.).

9. Klinika za urologiju, Klinički centar Srbije. Available from: http://www.kcs.ac.rs/index.php/sr/klinike/klinika-za-urologiju/konzilijum/109-latinica/klinike/klinika-za-urologiju.

10. Kidney Disease: Improving Global Outcomes Transplant Work G. KDIGO clinical practice guideline for the care of kidney transplant recipients. *Am J Transplant*. 2009; 9 Suppl 3: S1-155.

11. Kahan BD, Keown P, Levy GA, Johnston A. Therapeutic drug monitoring of immunosuppressant drugs in clinical practice. *Clin Ther*. 2002; 24(3): 330-50.

12. Staatz CE, Tett SE. Clinical pharmacokinetics and pharmacodynamics of tacrolimus in solid organ transplantation. *Clin Pharmacokinet*. 2004; 43(10): 623-53.

13. Stenton SB, Partovi N, Ensom MH. Sirolimus: the evidence for clinical pharmacokinetic monitoring. *Clin Pharmacokinet*. 2005; 44(8): 769-86.

14. Staatz CE, Tett SE. Clinical pharmacokinetics and pharmacodynamics of mycophenolate in solid organ transplant recipients. *Clin Pharmacokinet*. 2007; 46(1): 13-58.

15. Bowman LJ, Brennan DC. The role of tacrolimus in renal transplantation. *Expert Opin Pharmacother*. 2008; 9(4): 635-43.

16. Johnson H, Schonder, KS. Solid-organ Transplantation. In: DiPiro J, Talbert, RL, Yee, GC, Matzke, GR, Wells, BG, Posey, LM, editor. Pharmacotherapy: A Pathophysiologic Approach. Eighth ed. New York: The McGraw-Hill Companies, Inc.; 2011. p. 1537 - 59.

17. Plosker GL, Foster RH. Tacrolimus: a further update of its pharmacology and therapeutic use in the management of organ transplantation. *Drugs*. 2000; 59(2): 323-89.

18. ALIMS, Agencija za lekove i medicinska sredstva. Available from: http://www.alims.gov.rs.

19. eMC. Available from: http://www.medicines.org.uk/emc.

20. Venkataramanan R, Swaminathan A, Prasad T, Jain A, Zuckerman S, Warty V, et al. Clinical pharmacokinetics of tacrolimus. *Clin Pharmacokinet*. 1995; 29(6): 404-30.

21. Astellas Pharma. Summary of Product Characteristics for Prograf®. Last update on 18.06.2018. Available from: https://www.medicines.org.uk/emc/product/7488/smpc.

22. Zhang Y, Benet LZ. The gut as a barrier to drug absorption: combined role of cytochrome P450 3A and P-glycoprotein. *Clin Pharmacokinet*. 2001; 40(3): 159-68.

23. Tuteja S, Alloway RR, Johnson JA, Gaber AO. The effect of gut metabolism on tacrolimus bioavailability in renal transplant recipients. *Transplantation*. 2001; 71(9): 1303-7.

24. Bekersky I, Dressler D, Mekki QA. Effect of low- and high-fat meals on tacrolimus absorption following 5 mg single oral doses to healthy human subjects. *J Clin Pharmacol*. 2001; 41(2): 176-82.

25. Jusko WJ, D'Ambrosio R. Monitoring FK 506 concentrations in plasma and whole blood. *Transplantation proceedings*. 1991; 23(6): 2732-5.

26. Nagase K, Iwasaki K, Nozaki K, Noda K. Distribution and protein binding of FK506, a potent immunosuppressive macrolide lactone, in human blood and its uptake by erythrocytes. *J Pharm Pharmacol*. 1994; 46(2): 113-7.

27. Warty V, Venkataramanan R, Zendehrouh P, McKaveney T, Chao J, Todo S, et al. Distribution of FK 506 in plasma lipoproteins in transplant patients. *Transplantation proceedings*. 1991; 23(1 Pt 2): 954-5.

28. Moller A, Iwasaki K, Kawamura A, Teramura Y, Shiraga T, Hata T, et al. The disposition of 14C-labeled tacrolimus after intravenous and oral administration in healthy human subjects. *Drug Metab Dispos*. 1999; 27(6): 633-6.

29. de Wildt SN, Kearns GL, Leeder JS, van den Anker JN. Cytochrome P450 3A: ontogeny and drug disposition. *Clin Pharmacokinet*. 1999; 37(6): 485-505.

30. Pokrajac M. Farmakokinetika: Univerzitet u beogradu - Farmaceutski fakultet; 2012.

31. Bekersky I, Dressler D, Alak A, Boswell GW, Mekki QA. Comparative tacrolimus pharmacokinetics: normal versus mildly hepatically impaired subjects. *J Clin Pharmacol*. 2001; 41(6): 628-35.

32. Jain AB, Venkataramanan R, Cadoff E, Fung JJ, Todo S, Krajack A, et al. Effect of hepatic dysfunction and T tube clamping on FK 506 pharmacokinetics and trough concentrations. *Transplantation proceedings*. 1990; 22(1): 57-9.

33. Golubovic B, Prostran M, Miljkovic B, Vucicevic K, Radivojevic D, Grabnar I. Population pharmacokinetic approach of immunosuppressive therapy in kidney transplant patients. *Curr Med Chem*. 2016; 23(19): 1998-2011.

34. van Gelder T. Drug interactions with tacrolimus. *Drug Saf*. 2002; 25(10): 707-12.

35. Hesselink DA, Ngyuen H, Wabbijn M, Gregoor PJ, Steyerberg EW, van Riemsdijk IC, et al. Tacrolimus dose requirement in renal transplant recipients is

significantly higher when used in combination with corticosteroids. *Br J Clin Pharmacol*. 2003; 56(3): 327-30.

36. Burton ME SL, Schentag JJ, Evans WE. Applied Pharmacokinetics and Pharmacodynamics: Principles of Therapeutic Drug Monitoring Fourth ed: Lippincot Williams & Wilkins; 2005.

37. Stockley's Drug Interactions Tenth ed: Pharmaceutical Press; 2013.

38. Storset E, Holford N, Midtvedt K, Bremer S, Bergan S, Asberg A. Importance of hematocrit for a tacrolimus target concentration strategy. *Eur J Clin Pharmacol*. 2014; 70(1): 65-77. PubMed PMID: 24071959.

39. Asberg A, Midtvedt K, van Guilder M, Storset E, Bremer S, Bergan S, et al. Inclusion of CYP3A5 genotyping in a nonparametric population model improves dosing of tacrolimus early after transplantation. *Transpl Int*. 2013; 26(12): 1198-207. PubMed PMID: 24118301.

40. Woillard JB, de Winter BC, Kamar N, Marquet P, Rostaing L, Rousseau A. Population pharmacokinetic model and Bayesian estimator for two tacrolimus formulations--twice daily Prograf and once daily Advagraf. *Br J Clin Pharmacol*. 2011; 71(3): 391-402.

41. Moes DJ, Swen JJ, den Hartigh J, van der Straaten T, van der Heide JJ, Sanders JS, et al. Effect of CYP3A4*22, CYP3A5*3, and CYP3A Combined Genotypes on Cyclosporine, Everolimus, and Tacrolimus Pharmacokinetics in Renal Transplantation. *CPT Pharmacometrics Syst Pharmacol*. 2014; 3:e100.

42. Storset E, Holford N, Hennig S, Bergmann TK, Bergan S, Bremer S, et al. Improved prediction of tacrolimus concentrations early after kidney transplantation using theory-based pharmacokinetic modelling. *Br J Clin Pharmacol*. 2014; 78(3): 509-23.

43. Han N, Yun HY, Hong JY, Kim IW, Ji E, Hong SH, et al. Prediction of the tacrolimus population pharmacokinetic parameters according to CYP3A5 genotype and clinical factors using NONMEM in adult kidney transplant recipients. *Eur J Clin Pharmacol*. 2013; 69(1): 53-63.

44. Bergmann TK, Hennig S, Barraclough KA, Isbel NM, Staatz CE. Population pharmacokinetics of tacrolimus in adult kidney transplant patients: impact of CYP3A5 genotype on starting dose. *Ther Drug Monit*. 2014; 36(1): 62-70.

45. Antignac M, Barrou B, Farinotti R, Lechat P, Urien S. Population pharmacokinetics and bioavailability of tacrolimus in kidney transplant patients. *Br J Clin Pharmacol*. 2007; 64(6): 750-7.

46. Han N, Ha S, Yun HY, Kim MG, Min SI, Ha J, et al. Population pharmacokinetic-pharmacogenetic model of tacrolimus in the early period after kidney transplantation. *Basic Clin Pharmacol Toxicol*. 2014; 114(5): 400-6.

47. Staatz CE, Willis C, Taylor PJ, Tett SE. Population pharmacokinetics of tacrolimus in adult kidney transplant recipients. *Clin Pharmacol Ther*. 2002; 72(6): 660-9.

48. Benkali K, Premaud A, Picard N, Rerolle JP, Toupance O, Hoizey G, et al. Tacrolimus population pharmacokinetic-pharmacogenetic analysis and Bayesian estimation in renal transplant recipients. *Clin Pharmacokinet*. 2009; 48(12): 805-16.

49. Musuamba FT, Mourad M, Haufroid V, Demeyer M, Capron A, Delattre IK, et al. A simultaneous d-optimal designed study for population pharmacokinetic analyses of mycophenolic Acid and tacrolimus early after renal transplantation. *J Clin Pharmacol*. 2012; 52(12): 1833-43.

50. Zhang GM, Li L, Chen WQ, Bi SS, Liu X, Zhang XL, et al. [Population pharmacokinetics of tacrolimus in Chinese renal transplant patients]. *Yao Xue Xue Bao*. 2008; 43(7): 695-701.

51. Benkali K, Rostaing L, Premaud A, Woillard JB, Saint-Marcoux F, Urien S, et al. Population pharmacokinetics and Bayesian estimation of tacrolimus exposure in renal transplant recipients on a new once-daily formulation. *Clin Pharmacokinet*. 2010; 49(10): 683-92.

52. Woillard JB, Mourad M, Neely M, Capron A, van Schaik RH, van Gelder T, et al. Tacrolimus Updated Guidelines through popPK Modeling: How to Benefit More from CYP3A Pre-emptive Genotyping Prior to Kidney Transplantation. *Frontiers in pharmacology*. 2017; 8: 358. PubMed PMID: 28642710.

53. Press RR, Ploeger BA, den Hartigh J, van der Straaten T, van Pelt J, Danhof M, et al. Explaining variability in tacrolimus pharmacokinetics to optimize early exposure in adult kidney transplant recipients. *Ther Drug Monit*. 2009; 31(2): 187-97.

54. Borobia AM, Romero I, Jimenez C, Gil F, Ramirez E, De Gracia R, et al. Trough tacrolimus concentrations in the first week after kidney transplantation are related to acute rejection. *Ther Drug Monit*. 2009; 31(4): 436-42.

55. Kershner RP, Fitzsimmons WE. Relationship of FK506 whole blood concentrations and efficacy and toxicity after liver and kidney transplantation. *Transplantation*. 1996; 62(7): 920-6.

56. Staatz C, Taylor P, Tett S. Low tacrolimus concentrations and increased risk of early acute rejection in adult renal transplantation. *Nephrol Dial Transplant*. 2001; 16(9): 1905-9.

57. Venkataramanan R, Shaw LM, Sarkozi L, Mullins R, Pirsch J, MacFarlane G, et al. Clinical utility of monitoring tacrolimus blood concentrations in liver transplant patients. *J Clin Pharmacol*. 2001; 41(5): 542-51.

58. MacDonald A, Scarola J, Burke JT, Zimmerman JJ. Clinical pharmacokinetics and therapeutic drug monitoring of sirolimus. *Clin Ther*. 2000; 22 Suppl B: B101-21.

59. Kahan BD. Sirolimus: a new agent for clinical renal transplantation. *Transplantation proceedings*. 1997; 29(1-2): 48-50.

60. Sehgal SN. Sirolimus: its discovery, biological properties, and mechanism of action. *Transplantation proceedings*. 2003; 35(3 Suppl): 7S-14S.

61. Pfizer. Summary of Product Characteristics for Rapamune. Last update on 10.08.2018. Available from: https://www.medicines.org.uk/emc/product/1368/smpc.

62. Kelly PA, Napoli K, Kahan BD. Conversion from liquid to solid rapamycin formulations in stable renal allograft transplant recipients. *Biopharm Drug Dispos*. 1999; 20(5): 249-53.

63. Moes DJ, Guchelaar HJ, de Fijter JW. Sirolimus and everolimus in kidney transplantation. *Drug Discov Today*. 2015; 20(10): 1243-9.

64. Zimmerman JJ, Ferron GM, Lim HK, Parker V. The effect of a high-fat meal on the oral bioavailability of the immunosuppressant sirolimus (rapamycin). *J Clin Pharmacol*. 1999; 39(11): 1155-61.

65. Yatscoff RW, Wang P, Chan K, Hicks D, Zimmerman J. Rapamycin: distribution, pharmacokinetics, and therapeutic range investigations. *Ther Drug Monit*. 1995; 17(6): 666-71.

66. Brattstrom C, Sawe J, Jansson B, Lonnebo A, Nordin J, Zimmerman JJ, et al. Pharmacokinetics and safety of single oral doses of sirolimus (rapamycin) in healthy male volunteers. *Ther Drug Monit*. 2000; 22(5): 537-44.

67. Jacobsen W, Serkova N, Hausen B, Morris RE, Benet LZ, Christians U. Comparison of the in vitro metabolism of the macrolide immunosuppressants sirolimus and RAD. *Transplantation proceedings*. 2001; 33(1-2): 514-5.

68. Lampen A, Zhang Y, Hackbarth I, Benet LZ, Sewing KF, Christians U. Metabolism and transport of the macrolide immunosuppressant sirolimus in the small intestine. *J Pharmacol Exp Ther*. 1998; 285(3): 1104-12.

69. Sattler M, Guengerich FP, Yun CH, Christians U, Sewing KF. Cytochrome P-450 3A enzymes are responsible for biotransformation of FK506 and rapamycin in man and rat. *Drug Metab Dispos*. 1992; 20(5): 753-61.

70. Streit F, Christians U, Schiebel HM, Meyer A, Sewing KF. Structural identification of three metabolites and a degradation product of the macrolide immunosuppressant sirolimus (rapamycin) by electrospray-MS/MS after incubation with human liver microsomes. *Drug Metab Dispos*. 1996; 24(11): 1272-8.

71. Streit F, Christians U, Schiebel HM, Napoli KL, Ernst L, Linck A, et al. Sensitive and specific quantification of sirolimus (rapamycin) and its metabolites in blood of kidney graft recipients by HPLC/electrospray-mass spectrometry. *Clin Chem*. 1996; 42(9): 1417-25.

72. Trepanier DJ, Gallant H, Legatt DF, Yatscoff RW. Rapamycin: distribution, pharmacokinetics and therapeutic range investigations: an update. *Clin Biochem*. 1998; 31(5): 345-51.

73. Mahalati K, Kahan BD. Clinical pharmacokinetics of sirolimus. *Clin Pharmacokinet*. 2001; 40(8): 573-85.

74. Zimmerman JJ, Kahan BD. Pharmacokinetics of sirolimus in stable renal transplant patients after multiple oral dose administration. *J Clin Pharmacol*. 1997; 37(5): 405-15.

75. Zimmerman JJ, Lasseter KC, Lim HK, Harper D, Dilzer SC, Parker V, et al. Pharmacokinetics of sirolimus (rapamycin) in subjects with mild to moderate hepatic impairment. *J Clin Pharmacol*. 2005; 45(12): 1368-72.

76. Zimmerman JJ, Patat A, Parks V, Moirand R, Matschke K. Pharmacokinetics of sirolimus (rapamycin) in subjects with severe hepatic impairment. *J Clin Pharmacol.* 2008; 48(3): 285-92.

77. Ferron GM, Mishina EV, Zimmerman JJ, Jusko WJ. Population pharmacokinetics of sirolimus in kidney transplant patients. *Clin Pharmacol Ther*. 1997; 61(4): 416-28.

78. Djebli N, Rousseau A, Hoizey G, Rerolle JP, Toupance O, Le Meur Y, et al. Sirolimus population pharmacokinetic/pharmacogenetic analysis and bayesian modelling in kidney transplant recipients. *Clin Pharmacokinet*. 2006; 45(11): 1135-48.

79. Dansirikul C, Morris RG, Tett SE, Duffull SB. A Bayesian approach for population pharmacokinetic modelling of sirolimus. *Br J Clin Pharmacol*. 2006; 62(4): 420-34.

80. Jiao Z, Shi XJ, Li ZD, Zhong MK. Population pharmacokinetics of sirolimus in de novo Chinese adult renal transplant patients. *Br J Clin Pharmacol*. 2009; 68(1): 47-60.

81. Ette EIaW, P.J. . Pharmacometrics - The Science of Quantitative Pharmacology. Hoboken, New Jersey: John Wiley & Sons, Inc.; 2007.

82. Barrett JS, Fossler MJ, Cadieu KD, Gastonguay MR. Pharmacometrics: a multidisciplinary field to facilitate critical thinking in drug development and translational research settings. *J Clin Pharmacol*. 2008; 48(5): 632-49.

83. Bonate P. Pharmacokinetic-Pharmacodynamic Modeling and Simulation. New York: Springer; 2006.

84. Guidance for Industry, Population Pharmacokinetics. 1999. Available form: https://www.fda.gov/downloads/drugs/guidances/UCM072137.pdf

85. Rosenbaum SE, Carter AA, Dudley MN. Population pharmacokinetics: fundamentals, methods and applications. *Drug Dev Ind Pharm*. 1995; 21(9): 1115 - 41

86. Vučićević K, B. M, Pokrajac M, Petronijević M. Karakteristike populacionog farmakokinetičkog pristupa analizi podataka i njegov značaj u razvoju i primeni lekova. *Arhfarm*. 2005; 55: 483 - 96.

87. Sheiner LB. The population approach to pharmacokinetic data analysis: rationale and standard data analysis methods. *Drug Metab Rev*. 1984; 15(1-2): 153-71. PubMed PMID: 6745080.

88. Miller R. Population Pharmacokinetics. In: Atkinson AJ, Huang SM, editors. Principles of Clinical Pharmacology. Third ed2012. p. 139 - 53.

89. Wright PMC. Population based pharmacokinetic analysis: why do we need it; what is it; and what has it told us about anaesthetics? *Br J Anaesth*. 1998; 80: 488 - 501.

90. Pillai GC, Mentre F, Steimer JL. Non-linear mixed effects modeling - from methodology and software development to driving implementation in drug development science. *J Pharmacokinet Pharmacodyn*. 2005; 32(2): 161-83.

91. Sheiner LB, Rosenberg B, Marathe VV. Estimation of population characteristics of pharmacokinetic parameters from routine clinical data. *J Pharmacokinet Biopharm*. 1977; 5(5): 445-79.

92. Owen JS, J. F-K. Introduction to Population Pharmacokinetic/Pharmacodynamic Analysis with Nonlinear Mixed Effects Models. Hoboken, New Jersey: John Wiley & Sons, Inc.; 2014.

93. Bauer RJ. NONMEM Users Guide. Introduction to NONMEM 7.3.0. 2013.

94. Beal S, Sheiner, LB, Boeckmann, AJ. NONMEM users guide. Ellicott City: Icon Development Solutions; 1989 - 2011.

95. Mould DR, Upton RN. Basic concepts in population modeling, simulation, and model-based drug development-part 2: introduction to pharmacokinetic modeling methods. *CPT Pharmacometrics Syst Pharmacol*. 2013; 2:e38.

96. Karlsson MO, Savic RM. Diagnosing model diagnostics. *Clin Pharmacol Ther*. 2007; 82(1): 17-20.

97. Savic RM, Karlsson MO. Importance of shrinkage in empirical bayes estimates for diagnostics: problems and solutions. *Aaps J*. 2009; 11(3): 558-69.

98. EMA, European Medicines Agency. Guideline on reporing the results of population pharmacokinetic analyses. 2008. Available from: http://www.ema.europa.eu/docs/en_GB/document_library/Scientific_guideline/2009/09/WC500003067.pdf

99. Merkle EC, You D, Preacher KJ. Testing Nonnested Structural Equation Models. *Psychol Methods*. 2016; 21(2): 151-63 .

100. Kass RE, Raftery AE. Bayes factors. *J Amer Statistical Assoc*. 1995; 90: 773 - 95.

101. Ette EI, Williams PJ, Kim YH, Lane JR, Liu MJ, Capparelli EV. Model appropriateness and population pharmacokinetic modeling. *J Clin Pharmacol*. 2003; 43(6): 610-23.

102. Wade JR, Edholm M, Salmonson T. A guide for reporting the results of population pharmacokinetic analyses: a Swedish perspective. *Aaps j*. 2005; 7(2): 45.

103. Hooker AC, Staatz CE, Karlsson MO. Conditional weighted residuals (CWRES): a model diagnostic for the FOCE method. *Pharm Res*. 2007; 24(12): 2187-97.

104. Wahlby U, Jonsson EN, Karlsson MO. Comparison of stepwise covariate model building strategies in population pharmacokinetic-pharmacodynamic analysis. *AAPS PharmSci*. 2002; 4(4): E27.

105. Ette EI, Williams PJ, Lane JR. Population pharmacokinetics III: design, analysis, and application of population pharmacokinetic Studies. *Ann Pharmacother*. 2004; 38(12): 2136-44.

106. Sheiner LB, Beal SL. Some suggestions for measuring predictive performance. *J Pharmacokinet Biopharm*. 1981; 9(4): 503-12.

107. Parke J, Holford NH, Charles BG. A procedure for generating bootstrap samples for the validation of nonlinear mixed-effects population models. *Comput Methods Programs Biomed*. 1999; 59(1): 19-29.

108. Bergstrand M, Hooker AC, Wallin JE, Karlsson MO. Prediction-corrected visual predictive checks for diagnosing nonlinear mixed-effects models. *Aaps J*. 2011; 13(2): 143-51.

109. Keizer RJ, Karlsson MO, Hooker A. Modeling and Simulation Workbench for NONMEM: Tutorial on Pirana, PsN, and Xpose. *CPT Pharmacometrics Syst Pharmacol*. 2013; 2: e50.

110. Booth BP, Gobburu JV. Considerations in analyzing single-trough concentrations using mixed-effects modeling. *J Clin Pharmacol*. 2003; 43(12): 1307-15.

111. Sheiner LB, Beal SL. Evaluation of methods for estimating population pharmacokinetic parameters. III. Monoexponential model: routine clinical pharmacokinetic data. *J Pharmacokinet Biopharm*. 1983; 11(3): 303-19.

112. Vucicevic K, Miljkovic B, Pokrajac M, Prostran M, Martinovic Z, Grabnar I. The influence of drug-drug interaction and patients' characteristics on valproic acid's clearance in adults with epilepsy using nonlinear mixed effects modeling. *Eur J Pharm Sci*. 2009; 38(5): 512-8.

113. Harrel F. Regression Modeling Strategies. New York: Springer; 2001. 41-51 p.

114. Jonsson EN, Karlsson MO. Automated covariate model building within NONMEM. *Pharm Res*. 1998; 15(9): 1463-8.

115. Gisleskog PO, Karlsson MO, Beal SL. Use of prior information to stabilize a population data analysis. *J Pharmacokinet Pharmacodyn*. 2002; 29(5-6): 473-505.

116. Golubovic B, Vucicevic K, Radivojevic D, Kovacevic SV, Prostran M, Miljkovic B. Total plasma protein effect on tacrolimus elimination in kidney transplant patients--population pharmacokinetic approach. *Eur J Pharm Sci*. 2014; 52: 34-40.

117. Golubovic B, Vucicevic, K., Radivojevic, K., Kovacevic Vezmar, S., Prostran, M., Miljkovic, B. Exploring sirolimus pharmacokinetic variability using data available from the routine clinical care of renal transplant patients – population pharmacokinetic approach. *J Med Biochem*. 2018. In press.

118. Jonsson EN, Wade JR, Karlsson MO. Comparison of some practical sampling strategies for population pharmacokinetic studies. *J Pharmacokinet Biopharm*. 1996; 24(2): 245-63.

119. Wakefield J, Bennett J. The Bayesian Modeling of Covariates for Population Pharmacokinetic Models. *J Amer Statistical Assoc*. 1996; 91: 917 - 27

120. Antignac M, Hulot JS, Boleslawski E, Hannoun L, Touitou Y, Farinotti R, et al. Population pharmacokinetics of tacrolimus in full liver transplant patients: modelling of the post-operative clearance. *Eur J Clin Pharmacol*. 2005; 61(5-6): 409-16.

121. Li D, Lu W, Zhu JY, Gao J, Lou YQ, Zhang GL. Population pharmacokinetics of tacrolimus and CYP3A5, MDR1 and IL-10 polymorphisms in adult liver transplant patients. *J Clin Pharm Ther*. 2007; 32(5): 505-15.

122. Sam WJ, Tham LS, Holmes MJ, Aw M, Quak SH, Lee KH, et al. Population pharmacokinetics of tacrolimus in whole blood and plasma in asian liver transplant patients. *Clin Pharmacokinet*. 2006; 45(1): 59-75.

123. Zahir H, McLachlan AJ, Nelson A, McCaughan G, Gleeson M, Akhlaghi F. Population pharmacokinetic estimation of tacrolimus apparent clearance in adult liver transplant recipients. *Ther Drug Monit*. 2005; 27(4): 422-30.

124. Andreu F, Colom H, Grinyo JM, Torras J, Cruzado JM, Lloberas N. Development of a population PK model of tacrolimus for adaptive dosage control in stable kidney transplant patients. *Ther Drug Monit*. 2015; 37(2): 246-55.

125. Wade JR, Kelman AW, Howie CA, Whiting B. Effect of misspecification of the absorption process on subsequent parameter estimation in population analysis. *J Pharmacokinet Biopharm*. 1993; 21(2): 209-22.

126. Holford NH. A size standard for pharmacokinetics. *Clin Pharmacokinet*. 1996; 30(5): 329-32.

127. Fadiran EO, Zhang L. Effect of sex differences in the pharmacokinetics of drugs and their impact on the safety of medicines in women. In: Harrison-Woolrych M, editor. Medicines for women: Springer; 2015. p. 41 - 68.

128. Zhao W, Elie V, Roussey G, Brochard K, Niaudet P, Leroy V, et al. Population pharmacokinetics and pharmacogenetics of tacrolimus in de novo pediatric kidney transplant recipients. *Clin Pharmacol Ther*. 2009; 86(6): 609-18.

129. Undre NA, Schafer A. Factors affecting the pharmacokinetics of tacrolimus in the first year after renal transplantation. European Tacrolimus Multicentre Renal Study Group. *Transplantation proceedings*. 1998; 30(4): 1261-3.

130. Zahir H, McCaughan G, Gleeson M, Nand RA, McLachlan AJ. Factors affecting variability in distribution of tacrolimus in liver transplant recipients. *Br J Clin Pharmacol*. 2004; 57(3): 298-309.

131. Fournier T, Medjoubi NN, Porquet D. Alpha-1-acid glycoprotein. *Biochim Biophys Acta*. 2000; 1482(1-2): 157-71.

132. Israili ZH, Dayton PG. Human alpha-1-glycoprotein and its interactions with drugs. *Drug Metab Rev*. 2001; 33(2): 161-235.

133. Vannice JL, Taylor JM, Ringold GM. Glucocorticoid-mediated induction of alpha 1-acid glycoprotein: evidence for hormone-regulated RNA processing. *Proc Natl Acad Sci U S A*. 1984; 81(14): 4241-5.

134. Garcia Sanchez MJ, Manzanares C, Santos-Buelga D, Blazquez A, Manzanares J, Urruzuno P, et al. Covariate effects on the apparent clearance of tacrolimus in paediatric liver transplant patients undergoing conversion therapy. *Clin Pharmacokinet*. 2001; 40(1): 63-71.

135. Elens L, Haufroid V. Genotype-based tacrolimus dosing guidelines: with or without CYP3A4*22? *Pharmacogenomics*. 2017; 18(16): 1473-80.

136. Zhang J, Kuehl P, Green ED, Touchman JW, Watkins PB, Daly A, et al. The human pregnane X receptor: genomic structure and identification and functional characterization of natural allelic variants. *Pharmacogenetics*. 2001; 11(7): 555-72.

137. Kliewer SA, Goodwin B, Willson TM. The nuclear pregnane X receptor: a key regulator of xenobiotic metabolism. *Endocr Rev*. 2002; 23(5): 687-702.

138. Soda M, Fujitani M, Michiuchi R, Shibayama A, Kanamori K, Yoshikuni S, et al. Association Between Tacrolimus Pharmacokinetics and Cytochrome P450 3A5 and Multidrug Resistance Protein 1 Exon 21 Polymorphisms. *Transplantation proceedings*. 2017; 49(6): 1492-8.

139. Anglicheau D, Flamant M, Schlageter MH, Martinez F, Cassinat B, Beaune P, et al. Pharmacokinetic interaction between corticosteroids and tacrolimus after renal transplantation. *Nephrol Dial Transplant*. 2003; 18(11): 2409-14.

140. Park SI, Felipe CR, Pinheiro-Machado PG, Garcia R, Fernandes FB, Casarini DE, et al. Tacrolimus pharmacokinetic drug interactions: effect of prednisone, mycophenolic acid or sirolimus. *Fundam Clin Pharmacol*. 2009; 23(1): 137-45.

141. Ahn JE, Birnbaum AK, Brundage RC. Inherent correlation between dose and clearance in therapeutic drug monitoring settings: possible misinterpretation in population pharmacokinetic analyses. *J Pharmacokinet Pharmacodyn*. 2005; 32(5-6): 703-18.

142. Macphee IA, Fredericks S, Tai T, Syrris P, Carter ND, Johnston A, et al. Tacrolimus pharmacogenetics: polymorphisms associated with expression of cytochrome p4503A5 and P-glycoprotein correlate with dose requirement. *Transplantation*. 2002; 74(11): 1486-9.

143. Rosso Felipe C, de Sandes TV, Sampaio EL, Park SI, Silva HT, Jr., Medina Pestana JO. Clinical impact of polymorphisms of transport proteins and enzymes involved in the metabolism of immunosuppressive drugs. *Transplantation proceedings*. 2009; 41(5): 1441-55.

144. Loh PT, Lou HX, Zhao Y, Chin YM, Vathsala A. Significant impact of gene polymorphisms on tacrolimus but not cyclosporine dosing in Asian renal transplant recipients. *Transplantation proceedings*. 2008; 40(5): 1690-5.

145. Emoto C, Fukuda T, Cox S, Christians U, Vinks AA. Development of a Physiologically-Based Pharmacokinetic Model for Sirolimus: Predicting Bioavailability Based on Intestinal CYP3A Content. *CPT Pharmacometrics Syst Pharmacol*. 2013; 2: e59.

146. Kahan BD, Napoli KL, Kelly PA, Podbielski J, Hussein I, Urbauer DL, et al. Therapeutic drug monitoring of sirolimus: correlations with efficacy and toxicity. *Clin Transplant*. 2000; 14(2): 97-109.

147. Doehmer J, Tewes B, Klein KU, Gritzko K, Muschick H, Mengs U. Assessment of drug-drug interaction for silymarin. *Toxicol In Vitro*. 2008; 22(3): 610-7.

148. Sridar C, Goosen TC, Kent UM, Williams JA, Hollenberg PF. Silybin inactivates cytochromes P450 3A4 and 2C9 and inhibits major hepatic glucuronosyltransferases. *Drug Metab Dispos*. 2004; 32(6): 587-94.

149. Tsukamoto S, Aburatani M, Yoshida T, Yamashita Y, El-Beih AA, Ohta T. CYP3A4 inhibitors isolated from Licorice. *Biol Pharm Bull*. 2005; 28(10): 2000-2.

150. Zhang S, Morris ME. Effects of the flavonoids biochanin A, morin, phloretin, and silymarin on P-glycoprotein-mediated transport. *J Pharmacol Exp Ther*. 2003; 304(3): 1258-67.

151. Levy C, Seeff LD, Lindor KD. Use of herbal supplements for chronic liver disease. *Clin Gastroenterol Hepatol*. 2004; 2(11): 947-56.

152. Pradhan SC, Girish C. Hepatoprotective herbal drug, silymarin from experimental pharmacology to clinical medicine. *Indian J Med Res*. 2006; 124(5): 491-504.

Прилози

Прилог 1: Листа скраћеница

AGE	старост
AIC	Акајикеов критеријум
ALP	алкална фосфатаза
ALT	аланин-аминотрансфераза
AST	аспартат-аминотрансфераза
BIC	Бејзов критеријум
BMI	индекс телесне масе (*Body Mass Index)*
BSA	површина тела (*Body Surface Area)*
Vd/F	орални волумен дистрибуције
Vp/F	орални волумен периферног простора
VPC	визуелна процена предиктивности
Vc	волумен централног простора
Vc/F	орални волумен централног простора
GEND	пол
GRFT	порекло трансплантираног органа – живи или кадаверични донор
DV	измерене концентрације
DIAL	присуство дијализе пре трансплантације
DIPIN	коваријата која означава примену дихидропиридинских блокатора канала за калцијум
Do	примењена доза
DTAC	дневна доза такролимуса
DSRL	дневна доза сиролимуса
EBE	емпиријска Бејзова процена
IL-2	интерлеукин 2
IPRED	индивидуална моделом предвиђена вредност концентрације
i.v.	интравенски
IWRES	индивидуални пондерисани резидуали
I*IWRES*I	апсолутна вредност индивидуалних пондерисаних резидуала

KDIGO	побољшање глобалних исхода у болестима бубрега (*Kidney Disease Improving Global Outcomes*)
k_{el}	константа брзине елиминације
KORT	коваријата која означава примену кортикостероида
k_{res}	константа брзине ресорпције
k_{12}	константа брзине преласка лека из централног у периферни простор
k_{21}	константа брзине преласка лека из периферног у централни простор
LOCF	метод за додељивање вредности коваријати преписивањем последње измерене вредности
LC	течна хроматографија
MMF	коваријата која означава примену микофенолат мофетила
MPE	средња грешка предвиђања
mTOR	рецептор за рапамицин код сисара *(the mammalian target of rapamycin)*
NF-AT	нуклеарни фактор активираних Т ћелија
NPC	нумеричка процена предиктивности
OMEP	коваријата која означава примену омепразола
OFV	вредност објективне функције
PDAY	време протекло од трансплантације бубрега
PIK	површина испод криве концентрација у функцији времена
PRED	популационе предвиђене концентрације
pvcVPC	предикционо и за варијабилност коригована визуелна процена предиктивности
PXR	прегнански рецептор (*Pregnane X Receptor*)
P-gp	гликопротеин П
RANI	коваријата која означава примену ранитидина
RMSPE	корен из квадрата средње грешке предвиђања
R^2	коефицијент детерминације
Sd	стандардна девијација
SE	стандардна грешка
SECR	серумски креатинин
STAT	коваријата која означава примену статина
Scm	степеновано грађење модела (*stepwise covariate model building*)

TV	вредност централне тенденције за параметар, типична вредност параметра
TDM	терапијско праћење лекова *(Therapeutic Drug Monitoring)*
TIME	време
t_{lag}	време одлагања ресорпције
t_{max}	време за које се постиже максимална концентрација
TRIG	триглицериди
$t_{1/2}$	полувреме елиминације
UV	ултраљубичасто
UP	укупни протеини плазме
F	биолошка расположивост
FDA	Америчка управа за храну и лекове (*Food and Drug Administration)*
FIX	фиксирана вредност
FKBP12	ФК везујући протеин 12
FO	метод процене првог реда
FOCE	кондиционални метод процене првог реда
FOCEI	кондиционални метод процене првог реда са интеракцијом
FFM	телесна маса без масти
HCT	хематокрит
HOL	укупни холестерол
HPLC – MS	високо ефикасна течна хроматографију спрегнута са масеним детектором
CAB	истовремена примена блокатора калцијумских канала
CBLOK	коваријата која означава примену верапамила или дилтиазема
CV	коефицијент варијације
CI	интервал поузданости
CL/F	орални клиренс
C_{max}	максимална концентрација
COV	коваријата, фактор утицаја
Cp_t	концентрација лека у плазми
C_{trough}	минимална концентрација, концентрација мерена пред примену наредне дозе лека
CYP	цитохром

CWRES	кондиционални пондерисани резидуали
Q/F	орални клиренс између простора
Wa	адитивна грешка
Wp	пропорционална грешка
WT	укупна телесна маса
A	хибридна константа за брзину расподеле
B	хибридна константа за брзину елиминације
E	резидуална варијабилност
$\varepsilon_{shrinkage}$	скупљање индивидуалних моделом предвиђених концентрација ка измереним концентрацијама
H	интериндивидуална варијабилност
$\eta_{shrinkage}$	скупљање индивидуалних вредности параметара ка типичним популационим вредностима
θ	стални ефекти модела
σ^2	варијанса ε
ω^2	варијанса η
1-COMP	једноспросторни модел са линеарном ресорпцијом и елиминацијом уз фиксирање *Vd/F* и k_{res}
1-COMPprior	једнопросторни модел са линеарном ресорпцијом и елиминацијом уз коришћење претходно познатих података о *Vd/F* и k_{res} и њиховој варијабилности
2-*COMPprior*	двопросторни модел са линеарном ресорпцијом и елиминацијом уз коришћење претходно познатих података о k_{res}, *Vc/F*, *Vp/F*, *Q/F* и њиховој варијабилности

Прилог 2: Списак табела

Прилог 3: Списак слика

Прилог 4: Пример дела документа са подацима

ID	DAT1=DROP	PDAY	TIME	EVID	MDV	DV	AMT	II	SS	ADDL	TWT
1	4.4.2009	4	8:05	1	1	.	9	12	0	3	66
1	6.4.2009	6	8:00	0	0	14.3	.	.	0	.	66
1	6.4.2009	6	8:05	1	1	.	10	24	0	2	66
1	6.4.2009	6	20:05	1	1	.	9	24	0	2	66
1	9.4.2009	9	8:00	0	0	18	.	.	0	.	65
1	9.4.2009	9	8:05	1	1	.	10	24	1	3	65
1	9.4.2009	9	20:05	1	1	.	9	24	2	3	65
1	13.4.2009	13	8:00	0	0	22.5	.	.	0	.	65
1	13.4.2009	13	8:05	1	1	.	10	24	0	2	65
1	13.4.2009	13	20:05	1	1	.	6	24	0	2	65
1	16.4.2009	16	8:00	0	0	23.1	.	.	0	.	64
1	16.4.2009	16	8:05	1	1	.	8	12	0	1	64
1	17.4.2009	17	8:05	1	1	.	8	0	0	0	64
1	17.4.2009	17	20:05	1	1	.	7	0	0	0	64
1	18.4.2009	18	8:05	1	1	.	7	24	0	1	63
1	18.4.2009	18	20:05	1	1	.	6	24	0	1	63
1	20.4.2009	20	8:00	0	0	16.6	.	.	0	.	63
1	20.4.2009	20	8:05	1	1	.	7	24	0	2	63
1	20.4.2009	20	20:05	1	1	.	5	24	0	2	63
1	23.4.2009	23	8:00	0	0	26.8	.	.	0	.	63
1	23.4.2009	23	8:05	1	1	.	6	48	0	1	63
1	23.4.2009	23	20:05	1	1	.	6	48	0	1	63
1	24.4.2009	24	8:05	1	1	.	6	48	0	1	63
1	24.4.2009	24	20:05	1	1	.	3	48	0	1	63
1	27.4.2009	27	8:00	0	0	16.7	.	.	0	.	63
1	27.4.2009	27	8:05	1	1	.	5	48	0	3	63
1	27.4.2009	27	20:05	1	1	.	4	48	0	3	63
1	28.4.2009	28	8:05	1	1	.	5	48	0	2	63
1	28.4.2009	28	20:05	1	1	.	3	48	0	2	63
1	4.5.2009	34	8:00	0	0	13.2	.	.	0	.	63
1	4.5.2009	34	8:05	1	1	.	4	48	1	3	63
1	4.5.2009	34	20:05	1	1	.	4	48	2	3	63
1	5.5.2009	35	8:05	1	1	.	4	48	2	3	63
1	5.5.2009	35	20:05	1	1	.	3	48	2	3	63
1	12.5.2009	42	8:00	0	0	14	.	.	0	.	63
1	12.5.2009	42	8:05	1	1	.	4	24	1	6	63
1	12.5.2009	42	20:05	1	1	.	3	24	2	6	63
1	19.5.2009	49	8:00	0	0	12.1	.	.	0	.	63
1	19.5.2009	49	8:05	1	1	.	3	12	1	11	63

Прилог 5: *NONMEM®* код за финални модел за такролимус

```
$PROBLEM    Takrolimus
$INPUT      ID DAT1=DROP PDAY TIME EVID MDV DV AMT II SS ADDL TWT GRFT
         DIJL GEND AGE SECR HGB HCT UP ALP GGT AST ALT MMF KORT
$DATA       C:\Bojana\TAC\DATA\TacroK.csv
   IGNORE=@
$SUBROUTINE ADVAN2 TRANS2
$PK
;;; CLUP-DEFINITION START
  CLUP = ((UP/63.00)**THETA(10))
;;; CLUP-DEFINITION END
;;; CLTWT-DEFINITION START
  CLTWT = ((TWT/68.00)**THETA(9))
;;; CLTWT-DEFINITION END
;;; CLPDAY-DEFINITION START
  CLPDAY = ((PDAY/47.00)**THETA(8))
;;; CLPDAY-DEFINITION END
;;; CLHCT-DEFINITION START
CLHCT = ( 1 + THETA(7)*(HCT - 0.31))
;;; CLHCT-DEFINITION END
;;; CLAST-DEFINITION START
CLAST = ( 1 + THETA(6)*(AST - 15.00))
;;; CLAST-DEFINITION END
;;; CL-RELATION START
CLCOV=CLAST*CLHCT*CLPDAY*CLTWT*CLUP
;;; CL-RELATION END
 TVCL=THETA(1); TYPICAL VALUE OF CL
TVCL = CLCOV*TVCL
 CL=TVCL*EXP(ETA(1))
 TVV=THETA(2)*TWT; TYPICAL VALUE OF VOLUME
 V=TVV
 S2=V/1000
 TVKA=THETA(3)
 KA=TVKA; TYPICAL VALUE OF KA
```

```
$ERROR
    IPRED = F
    W     = SQRT(THETA(4)**2+(THETA(5)*IPRED)**2)
    IRES  = IPRED-DV
    IWRES = IRES/W
    Y     = IPRED+EPS(1)*W
$THETA  (0,10.1) ; THETA(1) FOR CL (L/H)
 0.68 FIX ; THETA(2) FOR V (L/KG)
 1.3 FIX ; THETA(3) FOR KA (1/H)
 (0,4.65) ; THETA(4)
 0 FIX ; THETA(5)
$THETA  (-0.002,-0.00148,0.090) ; CLAST1
$THETA  (-2.272,-0.847,3.571) ; CLHCT1
$THETA  (-1000000,-0.0233,1000000) ; CLPDAY1
$THETA  (-1000000,0.791,1000000) ; CLTWT1
$THETA  (-1000000,0.132,1000000) ; CLUP1
$OMEGA  0.0235  ; ETA(1) FOR CL
$SIGMA  1  FIX  ;     EPS(1)
$ESTIMATION SIGDIGITS=3 MAXEVALS=9999 METHOD=1 INTERACTION POSTHOC
        PRINT=5 NOABORT
$COVARIANCE
$TABLE    ID TIME EVID MDV IPRED IWRES PRED CWRES ONEHEADER NOPRINT
        FILE=sdtab88
$TABLE    ID TIME EVID MDV CL ETA(1) ONEHEADER NOPRINT FILE=patab88
$TABLE    ID TIME EVID MDV TWT PDAY UP HCT AST ONEHEADER NOPRINT FILE=cotab88
```

Прилог 6: *NONMEM®* код за финални модел за сиролимус

```
$PROB Sirolimus
$INPUT ID DAT1=DROP PDAY TIME EVID MDV DV AMT II ADDL SS WT GRFT DIJL SUPR CysA GEND AGE HGB HCT CRT UP ALP AST ALT MMF KORT LEU HOL TRIG INH
$DATA datasrld.csv
  IGNORE=@
$SUBROUTINE ADVAN4 TRANS4
$PRIOR NWPRI NTHETA=9 NETA=5 NEPS=1 NTHP=4 NETP=4 NEPP=0 NPEXP=1
$PK
;;; CLAST-DEFINITION START
IF(AST.GT.37) THEN
    FLG=1
    ELSE
    FLG=0
  ENDIF
CLAST=THETA(8)**FLG
;;; CLAST-DEFINITION END
;;; CLAGE - DEFINITION START
   CLAGE = (1+(AGE/44)*THETA(9))
;;; CL-RELATION START
CLCOV=CLAST*CLAGE
;;; CL-RELATION END
TVQ=THETA(1); TYPICAL VALUE OF Q
  Q=THETA(1)*EXP(ETA(1))
  TVV2=THETA(2); TYPICAL VALUE OF CENTRAL VOLUME
  V2=THETA(2)*EXP(ETA(2))
  S2=V2/1000
  TVV3=THETA(3);TYPICAL VALUE OF PERIPHERAL VOLUME
  V3=THETA(3)*EXP(ETA(3))
  S3=V3/1000
  TVKA=THETA(4); TYPICAL VALUE OF KA
  KA=THETA(4)*EXP(ETA(4))
  TVCL=THETA(5); TYPICAL VALUE OF CL
  TVCL=CLCOV*TVCL
```

```
  CL=TVCL*EXP(ETA(5))
$ERROR
    IPRED = F
    W     = SQRT(THETA(6)**2+(THETA(7)*IPRED)**2)
    IRES  = IPRED-DV
    IWRES = IRES/W
    Y     = IPRED+EPS(1)*W
$THETA
  20; THETA(1) for Q
  115; THETA(2)FOR V1 (L)
  500; THETA(3) FOR V2 (L)
  2.2; THETA(4) FOR KA (1/H)
  10; THETA(5) FOR CL (L/H)
  (0,0.5); THETA(6) FOR ADDITIVE
  0.5; THETA(7) FOR PROP
  0.5;THETA(8) FOR AST
  0.5; THETA(9) FOR AGE
$OMEGA
  0.1; ETA(1) FOR Q
  0.1; ETA(2) FOR V1
  0.1; ETA(3) FOR V2
  0.1; ETA(4) FOR KA
  0.1; ETA(5) FOR CL
; Priors for THETA
$THETA 20.4 FIX ; Q
$THETA 117 FIX ; V1
$THETA 583 FIX ; V2
$THETA 2.195 FIX ; KA
; Prior uncertainty for THETA
$OMEGA 37.4544 FIX ; Q
$OMEGA 114.7041 FIX ; V1
$OMEGA 6093.3636 FIX ; V2
$OMEGA 0.001444 FIX ; KA
; Priors for OMEGA
$OMEGA 0.1035 FIX ; ETA(1) FOR Q
```

```
$OMEGA 0.305 FIX ; ETA(2) FOR V1
$OMEGA 0.0654 FIX ; ETA(3) FOR V2
$OMEGA 0.1449 FIX ; ETA(4) FOR KA
; Degrees of freedom for OMEGA
$THETA 136 FIX ; Q
$THETA 135 FIX ; V1
$THETA 129 FIX ; V2
$THETA 138 FIX ; KA
$SIGMA
 1 FIX; EPS(1)
$EST
 SIGDIGITS=3
 MAXEVALS=9999
 METHOD=1
 INTERACTION
 POSTHOC
 PRINT=5
 NOABORT
$COV
$TABLE ID TIME EVID MDV IPRED IWRES PRED CWRES     ONEHEADER NOPRINT FILE = sdtab11
$TABLE ID TIME EVID MDV CL ETA(1) Q V2 V3 KA          ONEHEADER NOPRINT FILE = patab11
$TABLE ID TIME EVID MDV CL ETA(1) WT AGE HGB HCT CRT UP ALP AST ALT MMF KORT LEU HOL TRIG       ONEHEADER NOPRINT FILE = cotab11
$TABLE ID TIME EVID MDV CL ETA(1) GRFT DIJL SUPR CysA GEND INH   ONEHEADER NOPRINT FILE = catab11
```

Прилог 7: Пример конфигурационог фајла за *Scm*

```
model = basa1.mod
nm_version=7.2
logfile=basa1.log
search_direction = both
p_forward=0.05
p_backward=0.01
linearize=1
foce=1
epsilon=0
error=add

do_not_drop=PDAY,TWT,AGE,HCT,UP,ALP,AST,MMF,KORT

continuous_covariates=PDAY,TWT,AGE,HCT,UP,ALP,AST,MMF,KORT

[test_relations]
CL=PDAY,TWT,AGE,HCT,UP,ALP,AST,MMF,KORT

[valid_states]
continuous = 1,2,5
```

Биографија

Бојана Голубовић (рођена Перовић) рођена је 23.9.1983. у Подгорици, Црна Гора. Основну школу и гимназију завршила је у Никшићу. Дипломирала је 2008. године на Фармацеутском факултету Универзитета у Београду са просечном оценом 9,19 (девет и 19/100).

Након студија обавила је приправнички стаж у Апотекарској установи „Београд“ и апотеци Ургентног центра, Клинички центар Србије и положила стручни испит за фармацеуте, Министарства здравља Републике Србије. На Фармацеутском факултету Универзитета у Београду, на Катедри за фармакокинетику и клиничку фармацију, била је запослена у периоду од 2008. до 2016. године, прво у звању сарадника, а потом, у звању асистента. Од априла 2016. године запослена је у *Boehringer Ingelheim* у Биберaху, Немачка, као научник за претклиничку фармакометрију.

Академску специјализацију Фармацеутска здравствена заштита на Фармацеутском факултету Универзитета у Београду завршила је 2010. године, а 2013. године је уписала здравствену специјализацију Клиничка фармација на истом факултету. Школске 2008/2009. године уписала је докторске студије на Фармацеутском факултету, Универзитет у Београду, модул фармакокинетика и клиничка фармација и положила је све испите предвиђене програмом студија. Ради обуке и усавршавања из области клиничке фармације боравила је на *School of Pharmacy*, Лондон и *King's College*, Лондон у оквиру европског пројекта ТЕМПУС, чији је носилац био Фармацеутски факултет, Универзитет у Београду. У августу 2012. добила је стипендију компаније *Novartis* за Летњу школу фармакометрије у Упсали (*Uppsala Pharmacometric Summer School*). У периоду од 2011. до 2016. године била је ангажована на пројекту Министарства просвете, науке и технолошког развоја Републике Србије под називом: „Експериментална и клиничко-фармаколошка истраживања механизма дејства и интеракција лекова у нервном и кардиоваскуларном систему”. Учествовала је у европском истраживачком пројекту *EDQM* „Валидација индикатора о укључивању пацијената у фармацеутску здравствену заштиту“.

Награђена је за најбољи постер на 5. Конгресу фармацеута Србије са међународним учешћем у секцији Фармацеутска здравствена заштита – болничка фармација. Добитник је награде за најбољи постер на Годишњем виртуелном симпозијуму Америчког Колеџа за Клиничку фармацију (2014 *ACCP Virtual Symposium*).

До сада је објавила 8 радова у међународним часописима, један у домаћем часопису и имала више саопштења на скуповима националног и међународног карактера.

Изјава о ауторству

Име и презиме аутора Бојана Голубовић

Број индекса 22/08

Изјављујем

да је докторска дисертација под насловом

Популациони приступ фармакокинетичкој анализи такролимуса и сиролимуса у пацијената са трансплантираним бубрегом

- резултат сопственог истраживачког рада;
- да дисертација у целини ни у деловима није била предложена за стицање друге дипломе према студијским програмима других високошколских установа;
- да су резултати коректно наведени и
- да нисам кршио/ла ауторска права и користио/ла интелектуалну својину других лица.

Потпис аутора

У Београду, 05.10.2018

Изјава о истоветности штампане и електронске верзије докторског рада

Име и презиме аутора Бојана Голубовић

Број индекса 22/08

Студијски програм докторске академске студије фармацеутских наука – модул фармакокинетика и клиничка фармација

Наслов рада Популациони приступ фармакокинетичкој анализи такролимуса и сиролимуса у пацијената са трансплантираним бубрегом

Ментор др сц. Бранислава Миљковић, редовни професор

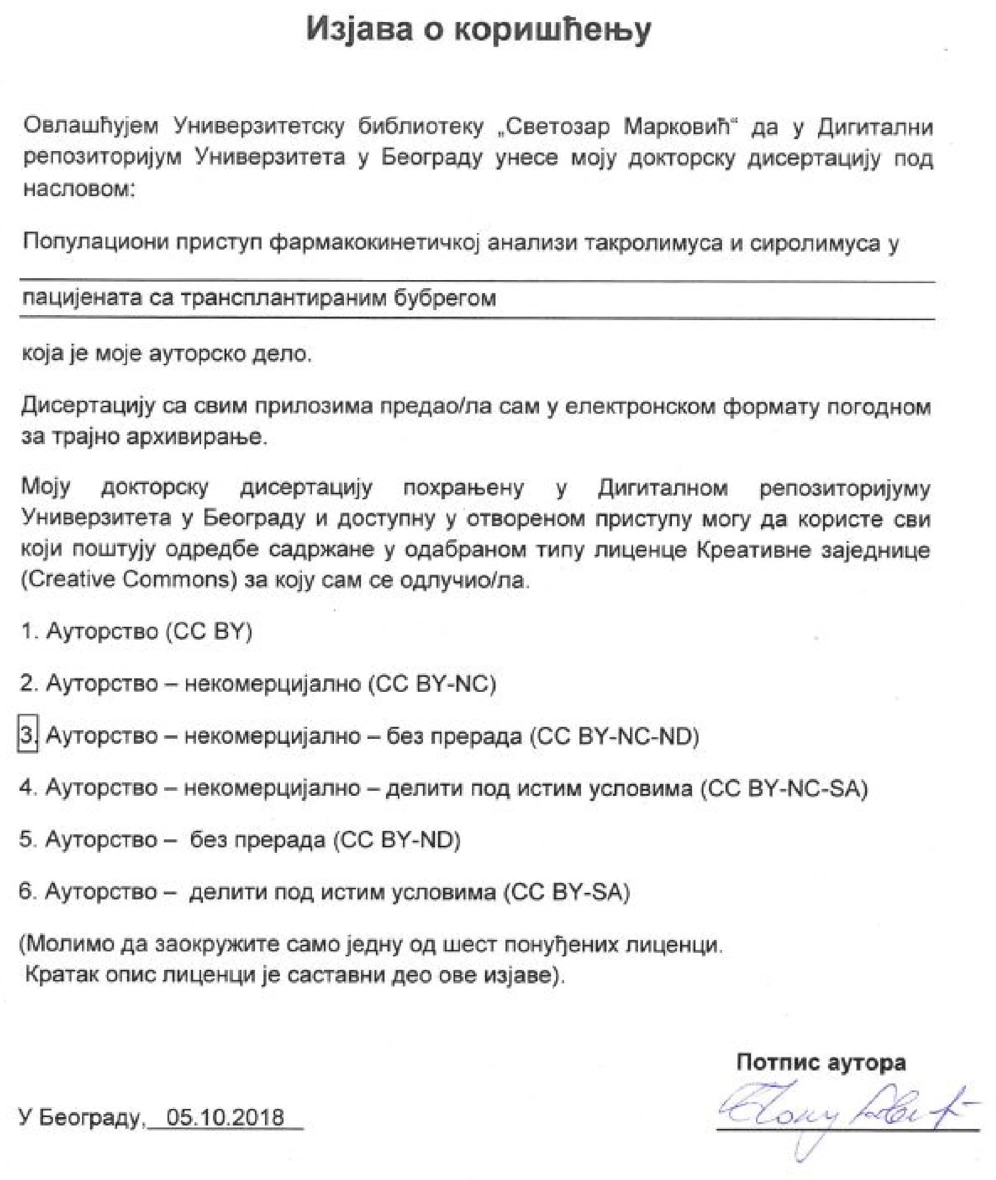
Изјављујем да је штампана верзија мог докторског рада истоветна електронској верзији коју сам предао/ла ради похрањена у **Дигиталном репозиторијуму Универзитета у Београду.**

Дозвољавам да се објаве моји лични подаци везани за добијање академског назива доктора наука, као што су име и презиме, година и место рођења и датум одбране рада.

Ови лични подаци могу се објавити на мрежним страницама дигиталне библиотеке, у електронском каталогу и у публикацијама Универзитета у Београду.

Потпис аутора

У Београду, 05.10.2018.



Изјава о коришћењу

Овлашћујем Универзитетску библиотеку „Светозар Марковић“ да у Дигитални репозиторијум Универзитета у Београду унесе моју докторску дисертацију под насловом:

Популациони приступ фармакокинетичкој анализи такролимуса и сиролимуса у пацијената са трансплантираним бубрегом

која је моје ауторско дело.

Дисертацију са свим прилозима предао/ла сам у електронском формату погодном за трајно архивирање.

Моју докторску дисертацију похрањену у Дигиталном репозиторијуму Универзитета у Београду и доступну у отвореном приступу могу да користе сви који поштују одредбе садржане у одабраном типу лиценце Креативне заједнице (Creative Commons) за коју сам се одлучио/ла.

1. Ауторство (CC BY)

2. Ауторство – некомерцијално (CC BY-NC)

[✓ 3.] Ауторство – некомерцијално – без прерада (CC BY-NC-ND)

4. Ауторство – некомерцијално – делити под истим условима (CC BY-NC-SA)

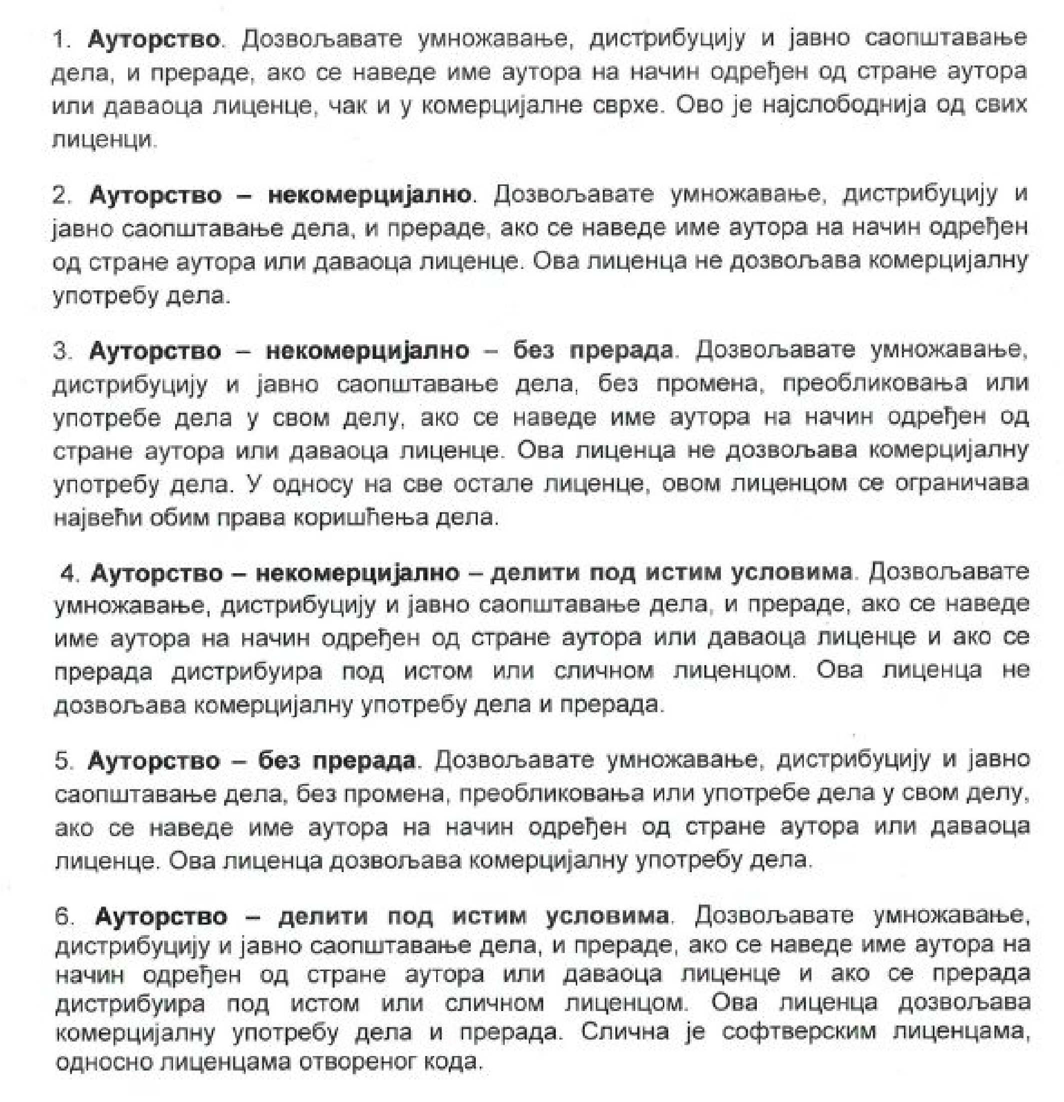
5. Ауторство – без прерада (CC BY-ND)

6. Ауторство – делити под истим условима (CC BY-SA)

(Молимо да заокружите само једну од шест понуђених лиценци.
Кратак опис лиценци је саставни део ове изјаве).

Потпис аутора

У Београду, 05.10.2018



1. **Ауторство**. Дозвољавате умножавање, дистрибуцију и јавно саопштавање дела, и прераде, ако се наведе име аутора на начин одређен од стране аутора или даваоца лиценце, чак и у комерцијалне сврхе. Ово је најслободнија од свих лиценци.

2. **Ауторство – некомерцијално**. Дозвољавате умножавање, дистрибуцију и јавно саопштавање дела, и прераде, ако се наведе име аутора на начин одређен од стране аутора или даваоца лиценце. Ова лиценца не дозвољава комерцијалну употребу дела.

3. **Ауторство – некомерцијално – без прерада**. Дозвољавате умножавање, дистрибуцију и јавно саопштавање дела, без промена, преобликовања или употребе дела у свом делу, ако се наведе име аутора на начин одређен од стране аутора или даваоца лиценце. Ова лиценца не дозвољава комерцијалну употребу дела. У односу на све остале лиценце, овом лиценцом се ограничава највећи обим права коришћења дела.

4. **Ауторство – некомерцијално – делити под истим условима**. Дозвољавате умножавање, дистрибуцију и јавно саопштавање дела, и прераде, ако се наведе име аутора на начин одређен од стране аутора или даваоца лиценце и ако се прерада дистрибуира под истом или сличном лиценцом. Ова лиценца не дозвољава комерцијалну употребу дела и прерада.

5. **Ауторство – без прерада**. Дозвољавате умножавање, дистрибуцију и јавно саопштавање дела, без промена, преобликовања или употребе дела у свом делу, ако се наведе име аутора на начин одређен од стране аутора или даваоца лиценце. Ова лиценца дозвољава комерцијалну употребу дела.

6. **Ауторство – делити под истим условима**. Дозвољавате умножавање, дистрибуцију и јавно саопштавање дела, и прераде, ако се наведе име аутора на начин одређен од стране аутора или даваоца лиценце и ако се прерада дистрибуира под истом или сличном лиценцом. Ова лиценца дозвољава комерцијалну употребу дела и прерада. Слична је софтверским лиценцама, односно лиценцама отвореног кода.